U N I V E R S I T E D E D I J O N

T H E S E

présentée

A LA FACULTE DES SCIENCES DE L'UNIVERSITE DE DIJON

pour obtenir

LE DOCTORAT D'UNIVERSITE

CONTRIBUTION A L'ETUDE DES MECANISMES DE L'ACTION ANTI-ULCERE CHEZ LE RAT

par

JOSE-LUIS PALLARES

JURY

Président :	Monsieur J. BEZARD
Examinateurs :	Madame J. CLEMENT
	Monsieur Cl. KLEPPING

18 Mai 1973

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

D E D I C A C E S :

A la mémoire de Monsieur CLEMENT, professeur à la faculté des Sciences de Dijon, qui m'a permis d'entreprendre cette thèse.

A Madame CLEMENT, Maître de recherches au C N R S, qui a contribué à ce que ce travail soit mené à bien et, que je veux particulièrement remercier pour tout le temps qu'elle m'a consacré.

A Monsieur BEZARD, professeur à la faculté des Sciences de Dijon que je remercie d'avoir accepté ce travail et de faire partie du jury.

A Monsieur KLEPPING, professeur au Centre Hospitalier Régional et Universitaire de Dijon, membre de ce jury que je remercie des conseils qu'il m'a donnés.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549828_0006

A Mes Parents et à Ma Soeur

A mon Epouse qui m'a beaucoup aidé

Au professeur V. SCARSELLI, en mémoire de notre travail commun, et en remerciement de ses conseils.

PLAN DU TRAVAIL

I. Introduction et historique 2

A. Production d'ulcères chez l'animal de laboratoire 6

a. Méthodes par action dominante du suc gastrique 7

Mann et Williamson 7

Shay 8

b. Méthodes d'ulcère vasculaire 9

Travaux de Berg 9

c. Méthodes neuro-hormonales 9

Stress 9

Ulcère réflexe 10

d. Méthodes chimiques 11

Ulcère pharmacologique 11

Mesure de la motilité intestinale 12

e. Test de guérison 13

B. Mesure de la production de suc gastrique 15

Shay 15

Fistule artificielle de l'estomac du chien 15

Méthode de Gosh et Schild 16

C. Muco-résistance 18

Modification de la méthode de Shay (technique personnelle) .. 18

II. Travail personnel 26

A. Travail expérimental pour rechercher les propriétés anti-ulcères d'une substance 26

B. Mise au point d'une méthode de Stress 30

C. Mesure de la barrière muqueuse protectrice par titrage de l'HCl 39

III. Discussion et Interprétation 50

IV. Conclusion 59

V. Bibliographie 61

I. INTRODUCTION ET HISTORIQUE

L'ulcère d'estomac est caractérisé anatomiquement par une perte de substance plus ou moins grande de la muqueuse gastrique, il existe chez l'individu sain une protection naturelle de la muqueuse stomacale contre l'action acide et protéolytique du suc gastrique; on sait aussi qu'en cas de mort subite, l'estomac peut être digéré par le suc gastrique, si celui-ci est abondant; il existe donc des mécanismes de défense qui ont été méconnus pendant longtemps, malgré les nombreuses théories à ce sujet. Dès 1856, Claude Bernard (2) envisageait l'action protectrice du mucus. Mais les phénomènes de muco-résistance ont été étudiés seulement depuis quelques années en raison de la complexité de la formation du mucus et des difficultés à étudier sa sécrétion.

Cependant depuis Claude Bernard, nombreux sont les chercheurs qui ont essayé de comprendre cette protection de la muqueuse contre l'action du suc gastrique. Plusieurs auteurs ont recherché les causes de la formation d'ulcère: trouble de la secrétion acido-peptique Mann-Williamson (22), Shay (38-39) troubles de la vascularisation, Berg (3) a assayé de produire des ulcères en ligaturant des vaisseaux, rôle du système nerveux Zavodskaya (42-43) réflexe de dégénérescence, influence des hormones de la surrénale Selye (37) stress et, très récemment, rôle de la perméabilité de

la muqueuse stomacale (8-10, 14, 23-34).
Tous ces travaux n'ont pas apporté de solution définitive au problème de la formation d'ulcères, mais ont permis d'étendre largement nos connaissances sur les processus de la secrétion gastrique et les facteurs en cause. Plusieurs tests, utilisés par ces auteurs servent encore à l'heure actuelle à étudier les effets des substances ulcérogènes ou anti-ulcères.
En 1953, Levrat (17-21) faisait un rapprochement entre certains traitements médicamenteux - dont l'aspirine - et l'apparition d'ulcères d'estomac. Au cours des années suivantes, Levrat et d'autres auteurs - Cabanne (16), Lambert (15-16) - établissaient une relation entre l'aspirine et l'ulcère d'estomac. En 1963, l'aspirine se présente comme un agent ulcérogène; Croft (8) a démontré qu'elle accélère l'exfoliation des cellules épithéliales de la muqueuse. Puis en 1964 les travaux de Menguy (23-28) et Davenport (9-10) ont apporté des éclaircissements sur les mécanismes de défense. Cependant le problème n'est pas encore entièrement résolu. De l'ensemble de ces travaux, on peut retenir, que quelles que soient les conditions de production de mucus, l'ulcère ne se forme pas en l'absence du suc gastrique, mais la seule présence de suc gastrique n'est pas un facteur déterminant, lorsque la défense de la muqueuse contre l'érosion par le suc gastrique est normale. On peut aussi penser qu'une des causes de l'ulcération est un trouble dans l'irrigation sanguine de l'estomac. Dans une zone de l'estomac, privée de vascularisation par ligature d'un vaisseau sanguin par exemple, la mort des cellules survient rapidement et l'agression de la muqueuse par le suc gastrique peut se produire, cependant l'irrigation ne tardera pas à se rétablir, grâce à des anastomoses; par ailleurs on sait que le sang est nécessaire à la vie cellulaire et qu'en cas de troubles circulatoires, la production du suc gastrique doit être réduite. Il ne faut pas méconnaître non plus l'existence des facteurs nerveux et hormonaux. L'existence de tous ces facteurs mettra en évidence la complexité des processus de

formation de l'ulcère et explique la difficulté à résoudre le problème.

L'objet de notre travail consiste à rechercher une méthode simple, rapide, reproductible et le plus efficace possible pour former des ulcères de l'estomac chez le rat dans le but d'essayer des substances qui empêchent l'érosion de la muqueuse de l'estomac chez des animaux placés dans les conditions ainsi définies.
Nous ferons tout d'abord l'historique des travaux relatifs à l'ulcère d'estomac; il sera suivi d'un exposé critique des différentes méthodes utilisées pour produire l'ulcération, pour mesurer la sécrétion peptido-acide et la "muco-résistance".

Principales étapes de l'approche de la compréhension des mécanismes impliqués dans l'ulcération gastrique.

1856	Claude Bernard	Hypothèse sur le rôle du mucus
1923	Mann et Williamson	Ulcère sécrétoire (gastro-jéjunostomie)
1945	Shay et Komarov	Ulcère par ligature du pylore
1947	Berg	Méthode vasculaire
1952	Selye	Observation sur le stress
1953	Rossi et Bonfils	Ulcère de stress par contrainte
	Levrat	Premières constations sur l'aspirine et l'ulcère d'estomac
1956	Saurey	Stress électrique
1958	Gosh et Schild	Mesure de la sécrétion gastrique
1959	Dorchester	Changement du poids et de la composition de l'estomac de rat après vagotomie
	Varro	Ulcère expérimental à la phénylbutazone chez le chien

1963	Croft	Exfoliation des cellules épithéliales après aspirine
1964	Davenport	Etudes sur la perméabilité de l'estomac au H^+
	Menguy	Etudes de la sécrétion du mucus
1965	Davenport	Effets des salicylates et de la stimulation de l'estomac
1967	Beeken	Pertes de protéines après salicylates
1969	Overholt	Effets du nerf vague et des salicylates sur la perméabilité de la barrière muqueuse gastrique
	Lambert	Incorporation des radio-sulfates dans la muqueuse après stress

A. Production d'ulcère chez l'animal de laboratoire

Le but final de notre expérimentation est la recherche de médicaments qui empêchent l'ulcération chez l'homme.

Cependant, pour notre expérimentation nous avons surtout utilisé le rat; la reproduction du phénomène de l'ulcère permet de contrôler divers paramètres et de multiplier les observations.

Pour aborder l'étude de l'ulcère de l'estomac, le rat est l'espèce la plus utilisée, bien que son estomac présente une différence anatomique par rapport à l'estomac humain. On distingue deux parties:

La première dite "Fundus" présente une muqueuse glandulaire semblable à celle de l'estomac humain par sa structure et ses fonctions; la deuxième dite "Rumen" est membraneuse et joue le rôle de réservoir alimentaire. Le "Rumen" ne semble remplir aucun rôle autre que celui d'emmagasiner les aliments. Il est dépourvu de musculature, ne possède aucune fonction sécrétoire et n'a pas d'équivalent dans l'estomac humain, lequel est constitué, rappelons-le, d'une muqueuse semblable à celle du "Fundus".

Pour cette raison les phénomènes qui ont lieu au niveau du "Rumen" ne seront pas exposés dans ce travail.

Les méthodes appliquées pour produire des ulcères chez le rat sont nombreuses et diverses; mais d'une façon générale elles présentent l'inconvénient d'être peu reproductibles et de ne pas réussir chez tous les animaux. Nous décrirons les plus importantes: on peut les classer comme suit.

a. Méthodes basées sur l'action prédominante du suc gastrique:
   Mann et Williamson (22)
   Shay (38-39)

b. Méthode vasculaire:
   Berg (3)

c. Méthodes neuro-hormonales:
   Stress de contrainte (4-5-34)
   Ulcère réflexe (42-43)

d. Méthodes chimiques:
   L'ulcère pharmacologique et la mesure de la motilité intestinale.

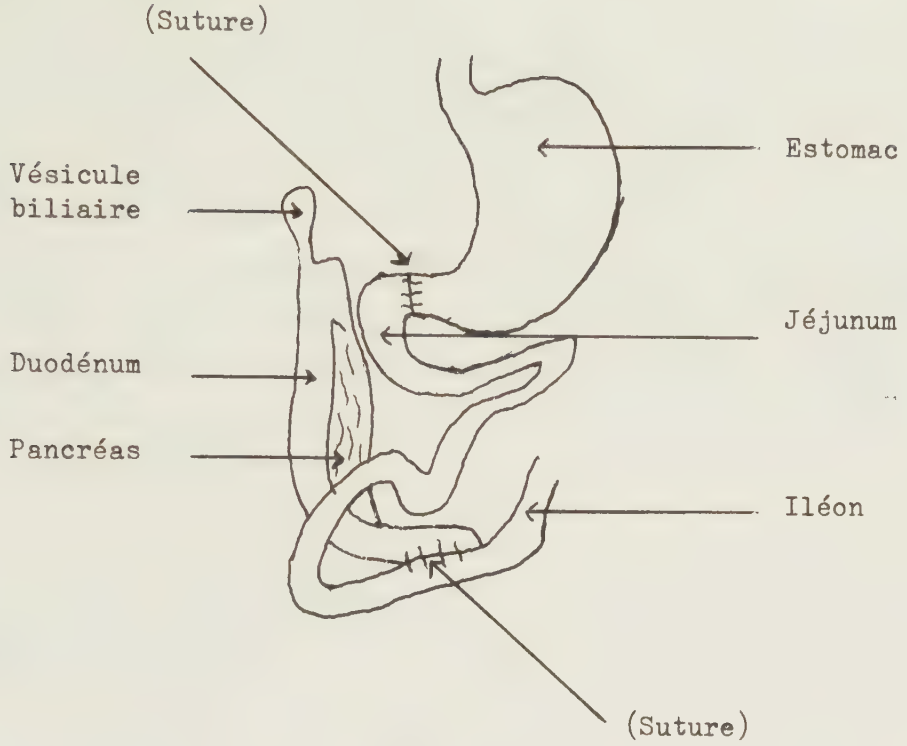
e. Test de guérison

a. Méthode par action dominante du suc gastrique

Méthode de Mann et Williamson

En 1923 Mann et Williamson (22) ont démontré qu'une gastro-jéjunostomie avec une anse fermée du duodénum (fig.I), produit des ulcérations peptiques de l'intestin. Il semble que la cause de ces lésions soit le blocage de la neutralisation de la sécrétion acide et une hypersécrétion de l'estomac. Cette méthode, appliquée à l'origine sur le chien, est aussi transposable au rat. L'application de cette technique a permis de préciser la nécessité de la présence du suc gastrique pour induire ces lésions.

Figure I: Opération de Mann et Williamson



Méthode de Shay

Cette méthode qui met en jeu un mécanisme similaire à celle de Mann et Williamson, est d'une réalisation beaucoup plus aisée.

En 1945 Harry Shay et ses collaborateurs observent, chez le rat dont on a ligaturé le pylore et qui peut survivre 18 heures à ce traitement, des ulcères perforants au niveau du "Rumen", par suite d'une accumulation importante de suc gastrique dans l'estomac. Le "Fundus" n'est pas lésé, sauf parfois dans la région pylorique, si la ligature produit un traumatisme de cette partie. Cette méthode reste très utilisée dans la recherche des agents anti-ulcères, bien qu'on puisse plutôt la considérer comme une méthode d'étude de la sécrétion acide.

b. Méthode d'ulcère vasculaire

Travaux de Berg

En 1947, après avoir échoué chez le chien, Berg a présenté une étude sur divers types de ligature vasculaire, produisant des ulcères d'estomac chez le rat. Le fait que cette méthode ne soit pas applicable au chien - dont l'estomac est plus proche de l'homme que celui du rat par sa vascularisation - diminue son intérêt: l'ulcère ainsi produit n'est pas comparable à celui de l'homme. De plus l'auteur n'obtient pas d'ulcère chez tous les rats opérés; ce manque de sécurité et d'analogie avec l'ulcère humain fait que la méthode n'est pas du tout utilisée.

c. Méthodes neuro-hormonales

Méthodes de Stress

Cette technique a pour origine les travaux de Selye (37), ce dernier ayant observé que ce phénomène neuro-hormonal produisait parfois des ulcères d'estomac. A partir de cette observation, Rossi et Bonfils (4-5) ont cherché à mettre au point une méthode de stress capable de produire des ulcérations gastriques avec sécurité. Ils y sont parvenu en mettant des rats "en contrainte" pendant 12 à 24 heures en les immobilisant à l'aide d'un grillage métallique. L'ulcération ainsi produite se localise sur le "Fundus". Il existe de nombreuses variantes de cette méthode:

Chocs électriques réguliers
Chocs électriques dès que l'animal tente de manger
Immobilisation suivie de chocs
Froid et immobilisation

Ces méthodes présentent l'inconvénient d'être peu reproductibles ou de demander un temps de stress assez long et dans le cas de

stress durant 24 heures, l'inhibition de l'ulcération par des drogues est difficile à obtenir; nous ne l'avons pas retenue, puisque notre but est de rechercher des substances anti-ulcères; nous avons intérêt a trouver une méthode relativement simple provoquant à tout coup la formation d'ulcères.

L'ulcère réflexe

Il existe de nombreuses références relatives à la production d' ulcères peptiques expérimentaux par stimulation ou destruction de plusieurs zones du cerveau. L'intérêt principal de cette recherche a été de démontrer les relations entre le système nerveux central et l'appareil digestif.

Par ailleurs, des chercheurs russes, Anichkov et Zavodskaya (42-43), ont présenté des résultats indiquant que les ulcères peuvent être provoqués par un réflexe entraînant des modifications cellulaires de la muqueuse gastrique plutôt que par un accroissement de la sécrétion acide. Ces auteurs pincent pendant 10 minutes le duodénum du rat et observent des ulcères du fudus 24 heures plus tard.

L'origine de ces travaux remontent à Pavlov et à ses théories sur l'influence du système nerveux sur les processus trophiques. Ses théories sur la régulation nerveuse et les causes de dystrophie qu'il entrevoyait dans l'altération de cette régulation ont été la base de ces études. Le rôle des catécholamines a été fortement souligné dans ce mode de production d'ulcère. Des titrages de la nor-adrénaline ont été faits sur des muqueuses gastriques "dystrophiées". Par "processus dystrophique" les auteurs entendent l'altération de l'intégrité structurale et de la stabilité des processus métaboliques se déroulant dans les tissus. Des stimulations produites par injection de nor-adrénaline ou par pincement du duodénum ont provoqué un abaissement du taux de nor-adrénaline dans

dans les tissus lésés. Des résultats identiques sont décrits après administration d'adrénaline ou d'isoprotérénol. Cette méthode basée sur l'atrophie de la muqueuse en fonction de certains paramètres présente l'inconvénient de négliger le rôle de plusieurs facteurs: celui de la gastrine, de l'histamine et de la sécrétion de mucus.

Autre raison de rejeter cette technique: la tentative personnelle d'utilisation de la méthode de pincement du duodénum, s'est toujours soldée par un échec.

d. Méthodes chimiques

Dans la plupart de ces méthodes l'agent ulcérant est administré par voie orale plutôt que par voie parentérale. Par exemple dans le cas de la phénylbutazone, on obtient une incidence d'ulcération de 100 % dans les 6 heures qui suivent l'ingestion, alors qu'administrée par voie parentérale on n'obtient pratiquement pas d'ulcération. Nous expliquons ce phénomène par le fait que l'élimination de la substance est beaucoup plus rapide par voie parentérale, sa concentration dans le sang est donc trop courte pour induire l'ulcération. Pour ces raisons, dans nos propres tests la phénylbutazone est administrée per os, bien que dans certains cas l'absorption soit inhibée par certaines substances telles que la morphine et l'ulcération ne se produit pas. Ces faits montrent qu'il est nécessaire de compléter ces investigations par un test de mesure de la motilité intestinale, lequel bien que n'ayant pas de relations avec l'ulcère permet d'apprécier la validité du test à la phénylbutazone.

L'ulcère pharmacologique

Les tests utilisant des agents pharmacologiques ont tout d'abord été employés dans le but de déterminer la tolérance gastrique de

nouvelles substances qui seront employées en clinique, et ensuite afin d'étudier des agents anti-ulcères. Les produits les plus courants pour la production d'ulcères gastriques chez l'animal sont:

L'histamine, la cortisone, les salicylates, la phénylbutazone, l'indométacine, la sérotonine, la réserpine, ...

Dans notre laboratoire, la méthode utilisée habituellement comporte l'emploi de la phénylbutazone. Les rats, soumis à un jeûne préalable de 24 heures, reçoivent par voie orale la phénylbutazone à raison de 150 mg / 10 ml en solution dans l'eau par kg d'animal. La phénylbutazone est solubilisée par Na OH IN et la solution est neutralisée par addition d'acide acétique à 10%. Les substances anti-ulcères sont injectées par voie parentérale lorsqu'elles sont hydrosolubles; si elles ne le sont pas, elles sont administrées par voie orale 10 minutes avant l'ingestion de phénylbutazone. Les animaux sont sacrifiés 6 heures après l'ingestion de phénylbutazone, les estomacs sont examinés; dans ces conditions les témoins (animaux recevant uniquement la phénylbutazone) présentent toujours des ulcérations.

Mesure de la motilité intestinale

Cette détermination est nécessaire dans les cas d'ulcère pharmacologique, où l'ulcération est induite par l'administration orale d'une substance (par ex. la phénylbutazone). Si la substance dont on veut étudier l'action anti-ulcère a un effet sur la motilité du tube digestif, elle peut retarder l'assimilation de l'agent ulcérogène. Pour apprécier cet effet on emploie le test "du repas de charbon". Chez des rats à jeûn depuis 24 heures, on administre par voie orale ou intrapéritonéale la substance à étudier, 30 minutes avant l'administration per os de 20 ml/kg d'une suspension de noir

végétal à 10 % dans la gomme arabique à 25 %. Trois heures après l'administration du noir végétal, les animaux sont sacrifiés et examinés. Le critère d'évaluation de la motilité est la présence de charbon dans le caecum, ce que l'on constate chez tous les témoins; par contre, si la substance est capable de ralentir la motilité intestinale, le charbon n'aura pas encore atteint le caecum.

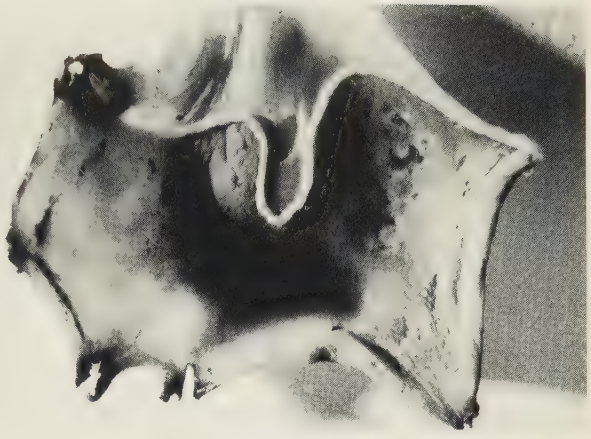
e. Test de guérison

Alors que toutes les méthodes décrites jusqu'alors avaient pour but de produire chez les animaux témoins une ulcération de l'estomac, la technique que nous allons décrire essaie de reproduire les conditions telles qu'elles se présentent chez l'homme; c'est-à-dire que les lésions existent déjà et qu'on recherche les médications qui permettraient leur cicatrisation. Il y a relativement peu de travaux qui reproduisent chez l'animal les conditions d'ulcération existant chez l'homme.

La méthode la plus connue consiste à reproduire les lésions standards en brûlant ou en pinçant la muqueuse gastrique. Ces lésions sont observées pendant quelques semaines et on recherche l'effet de plusieurs médications sur ces lésions. Ces tests constituent une méthode très valable pour "quantifier" la guérison mais il est difficile de déterminer la guérison de façon objective. Cet inconvénient, associé à celui de la durée de l'expérience et à la nécessité d'employer un critère histologique fait que cette méthode est peu employée.

igure II Estomac de rat après traitement ulcérogène

a. Estomac normal



b. Ulcère de Stress

c. Ulcère par traitement
à la phénylbutazone

d. Ulcère obtenu par vagotomie
et introduction de suc gastrique

B. Mesure de la production de suc gastrique

Pour effectuer cette mesure on tient compte du volume et de la teneur en HCl du suc gastrique recueilli. Après mesure de la sécrétion de base, de la sécrétion stimulée (fistule artificielle) ou de la sécrétion obtenue dans un lot témoin (rat de Shay) on peut étudier l'action d'un stimulant (par ex. l'histamine) ou d'un antagoniste (par ex. l'atropine).

La méthode de Gosh et Schild (12) permet de déterminer la sécrétion acide par mesure du pH.

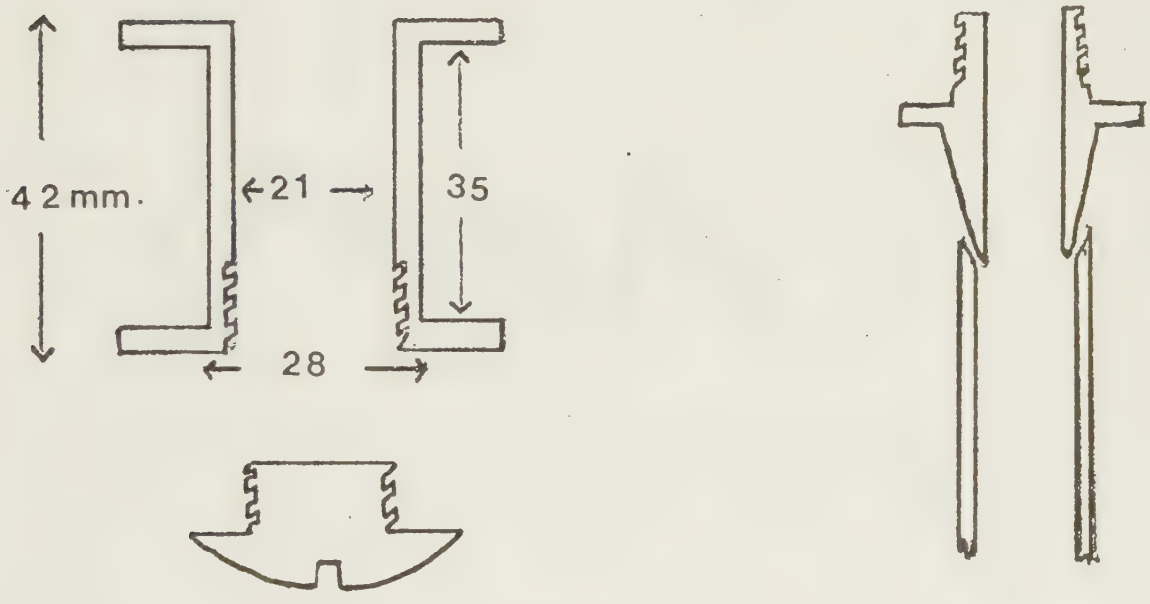
Préparation du rat selon Shay (voir page 8)

Fistule artificielle de l'estomac du chien

La technique est celle de A. Gerard (11). On utilise un cylindre en téflon de3,5 cm de long, de 2,1 cm de diamètre intérieur et de 2,8 cm de diamètre extérieur, les deux extrémités se terminant par un disque d'arrêt de 5 cm de diamètre. Le disque interne allant dans l'estomac est de forme elliptique. Le disque externe est circulaire avec 2 encoches opposées. L'ensemble de la canule a une épaisseur de 3,5 mm. L'extérieur de la canule est prévu pour recevoir un bouchon à vis. Ce dernier peut être manipulé sans dommage pour l'animal en serrant la fistule artificielle par les 2 encoches. La fistulisation se fait sous anesthésie au cours d'une intervention chirurgicale. La canule est introduite dans l'estomac par une incision longitudinale, située à 2 cm au-dessus de la grande courbure et à environ 8 cm au-dessus du pylore. Deux points en bourse assurent l'enfouissement de la muqueuse gastrique, un orifice cutané est prévu pour le passage de la canule à l'extérieur du muscle grand

droit dans le flanc gauche de l'animal. La paroi abdominale est refermée autour de la canule. Les chiens (Beagles) supportent très bien ce genre d'appareil; les accidents sont rares, mais il arrive parfois que le suc gastrique passe à l'extérieur du canal en téflon et provoque de graves lésions. Pendant l'expérience le suc gastrique est recueilli en raccordant par un système de filetage un conduit en caoutchouc à un tube à essai. (voir fig. III)
Cette technique peutêtre aussi appliquée au rat.

Figure III - Canule

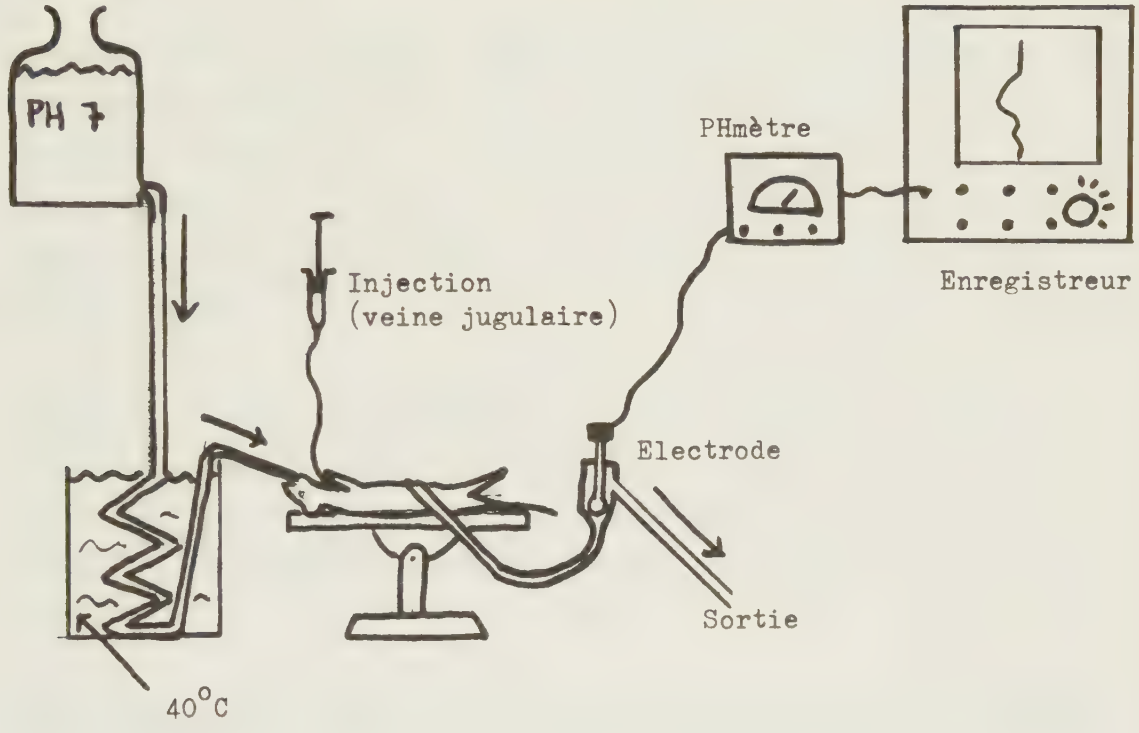


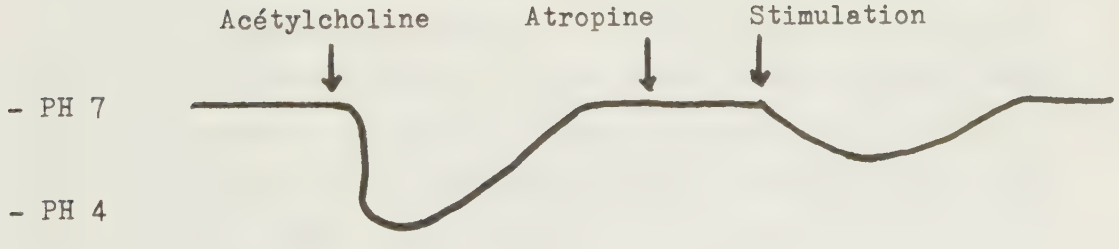
Méthode de Gosh et Schild

Chez un rat anesthésié, on fait passer par l'estomac, en débit continu, de l'eau légèrement sodée pour obtenir un pH d'environ 7.

L'eau qui a traversé l'estomac est dirigée ensuite sur l'électrode d'un pHmètre, lequel est connecté à un enregistreur (voir fig.IV). Toute sécrétion d'HCl se traduira par un abaissement du pH et l'action stimulante de la gastrine ou de l'histamine est facilement mise en évidence de cette façon.

Figure IV - Schéma illustrant la méthode de Gosh et Schild





(N.B. Smith a apporté une variante à cette méthode en faisant le lavage en circuit fermé et en mesurant la conductivité du liquide.)

C. Muco-résistance

Les études sur "la barrière muqueuse" sont relativement récentes. cependant Claude Bernard avait déjà étudié le problème et émit l'hypothèse du rôle protecteur du mucus.

Overholt et Coll. (1968) ont démontré à l'aide de la photométrie à flamme la diffusion dans la muqueuse de H^+ remplacés dans la cavité de l'estomac par des Na^+; cette diffusion a lieu après administration de sallicylates, d'atropine (vagotomie chimique) ou après une vagotomie. Ces expériences mettent en évidence le rôle du nerf vague.

Toutes ces études sur la"barrière muqueuse protectrice" donnent un nouvel aspect au problème de l'ulcère. Il est intéressant de développer une technique d'ulcère expérimental provoqué par une rupture de la "barrière muqueuse protectrice" excluant les autres facteurs.

Modification de la méthode de Shay par vagotomie et par introduction de suc gastrique (Pallarès et Scarselli publiée en 1971)

Si l'on accepte l'hypothèse selon laquelle la fonction d'une "barrière muqueuse" protectrice de la partie glandulaire serait maintenue par le nerf vague, on peut s'attendre à ce qu'une vagotomie détruise cette barrière et à ce que la muqueuse glandulaire soit attaquée par le suc gastrique jusqu'à formation d'un véritable ulcère du "Fundus". Mais puisque le nerf vague joue un rôle fondamental dans la sécrétion acide, l'estomac de rat avec ligature du pylore ne présente pas - après vagotomie bilatérale - de sécrétion acide. Pour vérifier l'hypothèse d'un rapport de

cause à effet entre la vagotomie et la vulnérabilité de la muqueuse glandulaire, il est nécessaire - en raison de l'effet de la vagotomie sur la sécrétion acide - d'introduire de l'extérieur, dans l'estomac dont on a ligaturé le pylore, la quantité de suc gastrique qu'il aurait produit si le nerf vague était resté intact.

Le but de cette recherche a été de produire des ulcères du "Fundus" dans l'estomac de rat vagotomisé rempli par le suc gastrique d'un donneur. Ensuite on a étudié le rôle de l'innervation vagale sur la composition chimique du mucus, par vagotomie et l'influence de quelques agents pharmacodynamiques sur la production de mucus et sur ce type d'ulcère.

Matériel et méthode:

La méthode de ligature du pylore selon Shay, est complétée par une vagotomie, et par l'introduction de 7 ml de suc gastrique. Les expériences sont faites sur des rats Wistar femelles de 130 à 150 g, soumis à un jeûne préalable de 24 h.

Technique opératoire:

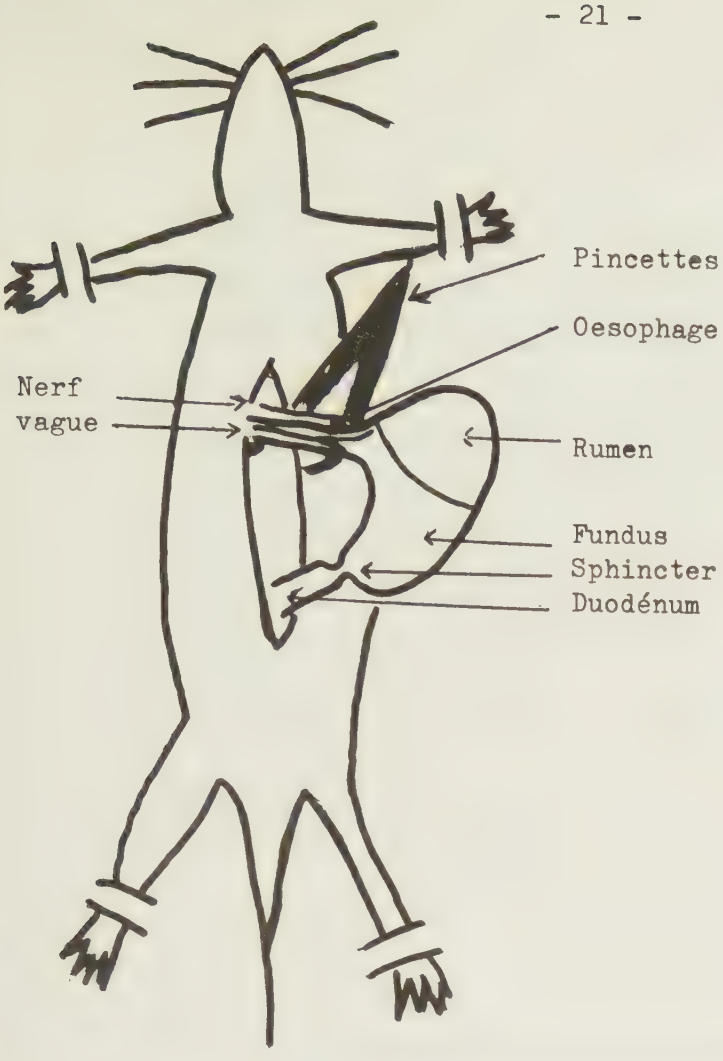
Sous anesthésie à l'éther, l'estomac est extériorisé. Une ligature est faite sur le duodénum à 5 mm du sphincter pylorique.L'oesophage est exposé sur environ 12 mm après avoir été soigneusement dégagé des vaisseaux sanguins et du tissu conjonctif. Pendant cette opération le nerf vague droit est coupé. Ensuite on glisse une pince fine sous l'oesophage, afin de le maintenir en distention, ce qui permet de passer 3 fils. Le premier de ces fils est noué le plus loin possible du cardia; le noeud des autres est laissé lâche pour être serré plus tard. Le deuxième fil est placé entre le premier et le cardia (environ 6 mm); le troisième est placé juste sur le cardia (fig. V). Une incision est faite entre le premier et le deuxième fil pour permettre l'introduction en direction de l'estomac

d'une fine canule métallique (diamètre 1 mm) reliée à une seringue par un tuyau (fig.VI). Le deuxième fil est serré, l'oesophage coupé entre le premier noeud et la canule (fig. 3). Après remise en place de l'estomac, 7 ml de suc gastrique ou de NaCl 0,9 % sont introduits. Le troisième fil est serré, la canule dégagée et l'abdomen suturé. La vagotomie gauche a été faite en coupant l'oesophage.

Cette opération demande plus de soins que la simple ligature du pylore pour éviter tout traumatisme de l'estomac. On prend soin de ne pas enfoncer la canule au-delà du cardia, car l'expérience a démontré que son contact avec la muqueuse provoque des lésions ulcéreuses. Le déplacement de la ligature de Shay à 5 mm du sphincter pylorique sur le duodénum n'apporte aucune modification de la sécrétion, mais évite la formation d'ulcères dus à la compression des petits vaisseaux dans l'épaisseur de la paroi.

Evaluation de l'érosion:

A la suite du séjour du suc gastrique ou du NaCl 0,9 % dans l'estomac, d'une durée comprise entre 1 h et 6 h selon l'expérience, les rats sont sacrifiés par inhalation de chloroforme; les estomacs sont prélevés, le contenu est recueilli dans des tubes à essai pour analyse. L'estomac est ouvert pour observer l'état de la muqueuse. L'évaluation est faite par la méthode du"tout ou rien", en comptant comme positive toute érosion - hémorragique ou non - visible à l'oeil nu.



Préparation de l'animal

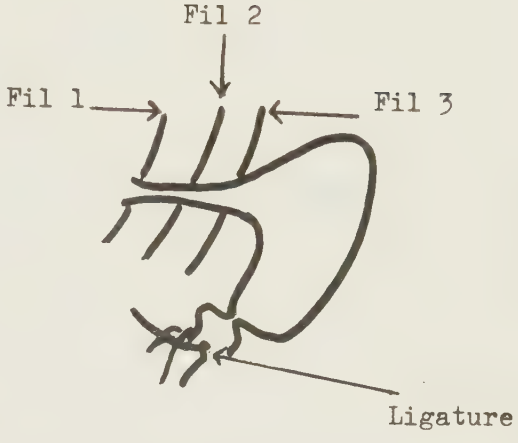


Figure V.

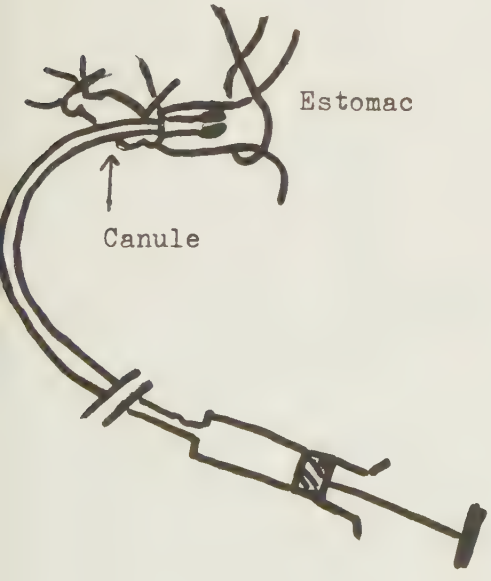


Figure VI.

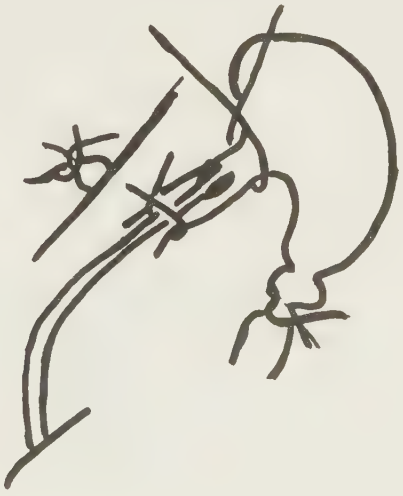
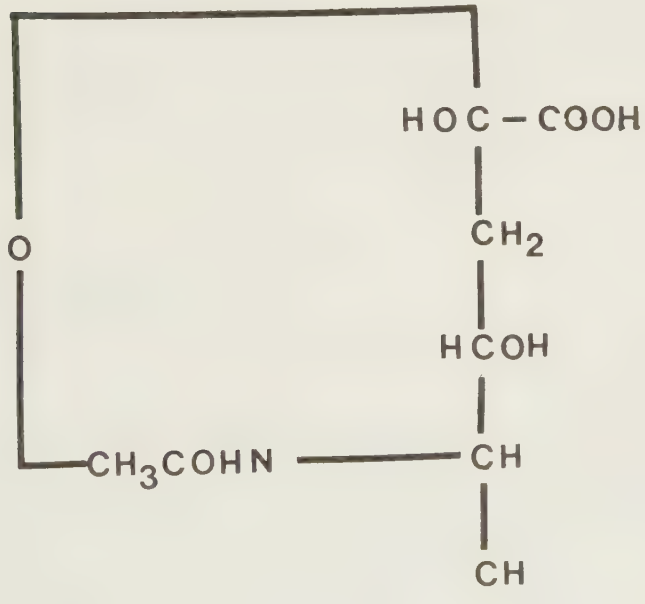


Figure VII.

Technique analytique:

Les acides sialiques se trouvent dans de nombreux tissus, et dans certaines bactéries. Ils entrent dans la composition des mucoprotéines, des mucopolysaccharides et de certains mucolipides. Ils sont au nombre de 5, le plus important est l'acide N-Acétylneuraminique, (C_{11} H_{19} NO_9), (voir fig. VIII) les quatre autres sont le N-Glycolylneuraminique, le N, O7-Diacétylneuraminique et le N, O, O-Triacétylneuraminique.
Gottschalk (13) démontre la fonction de l'acide N-Acétylneuraminique dans la viscosité des mucoprotéines.

Figure VIII - Formule de l'acide N-Acétylneuraminique d'après Gottschalk



Le titrage se fait par oxydation des acides sialiques avec du péridate de sodium solubilisé dans l'acide phosphorique concentré. Le produit d'oxydation est combiné avec de l'acide thiobarbiturique, le chromophore résultant de cette combinaison est extrait au moyen de cyclohexanone. Cette méthode analytique présentée par Waren (41) est la plus spécifique des méthoses colorimétriques et elle permet un titrage rapide, sûr et reproductible des acides sialiques libérés par hydrolyse.

1°) Hydrolyse:

Le suc gastrique préalablement clarifié par centrifugation séjourne 1 h au bain-marie à 80°C. Dans les expériences où le suc gastrique est remplacé par du NaCl 0,9 %, l'acidité de 0,1 N est obtenue par addition d'acide sulfurique et l'hydrolyse est réalisée dans les mêmes contitions.

Pour titrer les acides sialiques dans la muqueuse gastrique, on hydrolyse l'estomac entier, en l'introduisant dans un tube à essai et en additionnant 5 ml d'acide sulfurique 0,1 N.

2°) Analyse:

A. Méthode analytique

0,6 ml d'hydrolysat sont prélevés et mélangés avec 0,3 ml de réactif A (0,2 M de méta-périodate de sodium dissous dans de l'acide phosphorique 9 M) pour oxyder les acides sialiques. Après 20 minutes, l'oxydation est arrêtée par addition d'une solution (réactif B) de méta-arsenite de sodium à 10 % dans une solution de sulfate de sodium 0,5 M dans l'acide sulfurique 0,1 N. Le développement de la couleur se fait en ajoutant le réactif C: (Celui-ci est composé d'acide thiobarbiturique 0,6 % dissous dans une solution de sulfate de sodium 0,5 M), et en plongeant 15 minutes l'échantillon dans de l'eau bouillante. Une coloration rose-rouge

se produit; "l'extraction de la couleur" se fait en mélangeant l'échantillon avec de la cyclohexanone à volume égal. Après agitation, on centrifuge pendant 5 minutes à environ 3.000 t/mn., puis on lit la densité optique au spectrophotomètre à 549 m μ.

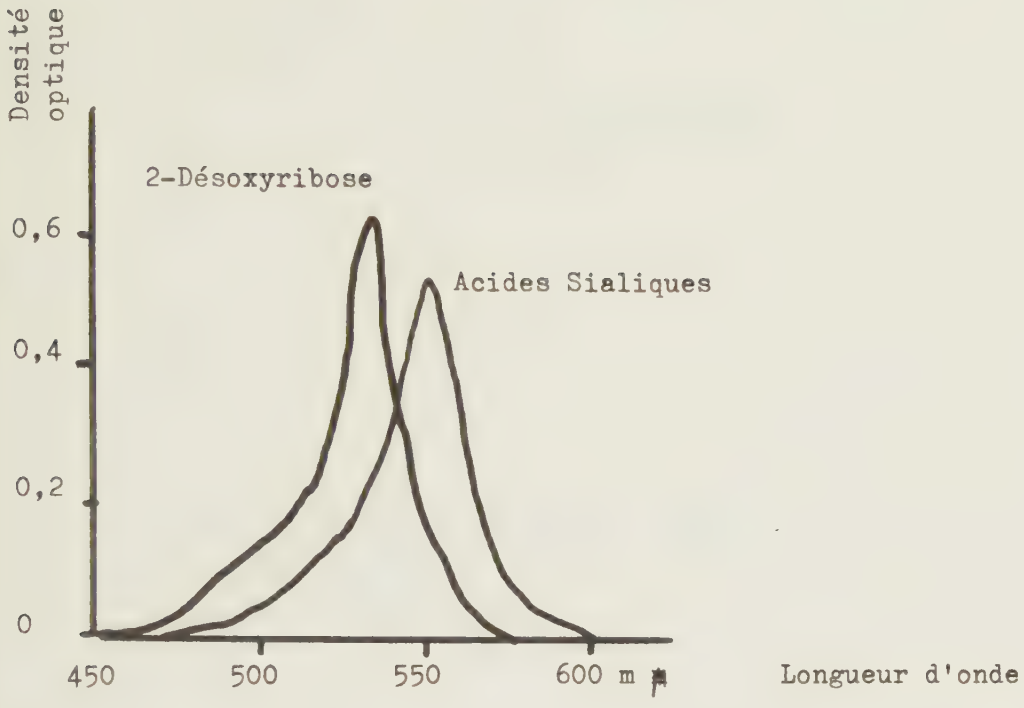
La valeur de la densité optique permet de déterminer les quantités d'acides sialiques en μ molécules par ml en appliquant la formule de calcul donnée par l'auteur. Dans le cas d'hydrolyse d'estomac entier l'interférence du 2-désoxyribose est corrigée en appliquant la formule indiquée également par Waren.

B. Vérification du spectre d'absorption

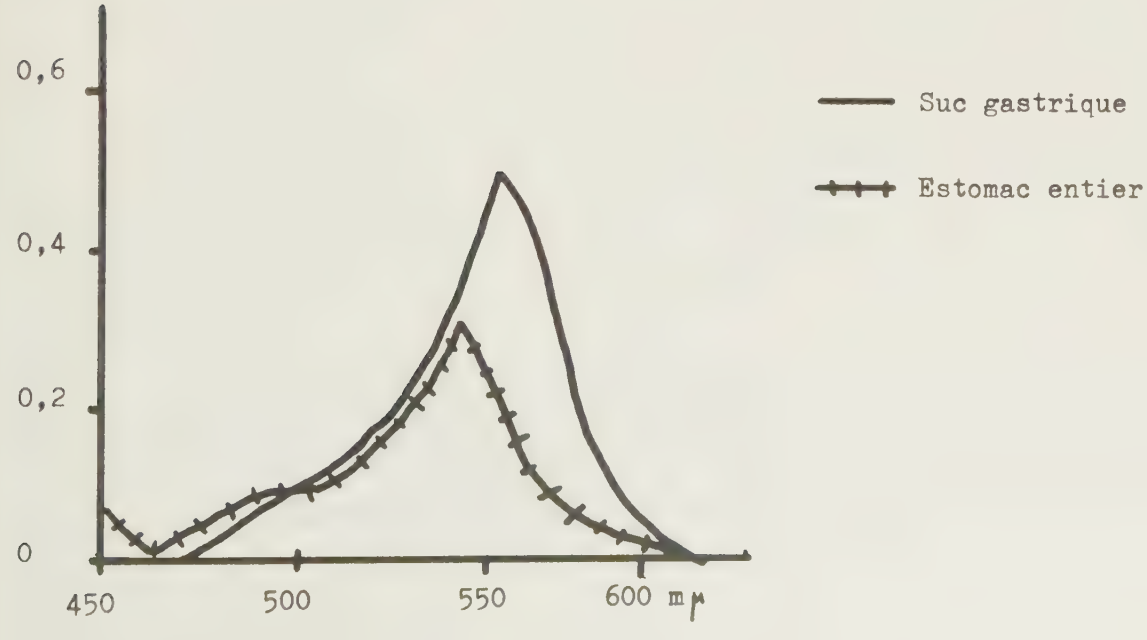
Dans sa publication, Waren a donné les spectres du 2-désoxyribose et des acides sialiques. La comparaison de cette courbe avec celles obtenues par nous-mêmes confirme le fait que dans le suc gastrique on titre uniquement les acides sialiques, alors que dans l'hydrolysat de l'estomac entier il y a une interférence importante du 2-désoxyribose (voir fig. IX, courbes 1 et 2).

figure IX - Vérification du spectre d'absorption

1) Courbe de Waren



2) Résultat personnel



II. TRAVAIL PERSONNEL

A. Travail expérimental pour rechercher les propriétés anti-ulcères d'une substance

Une substance pharmacologique capable de guérir l'ulcère de l'estomac, devra, soit bloquer spécifiquement la sécrétion acido-peptique, soit agir sur les mécanismes de défense de l'estomac contre cette sécrétion acido-peptique: Comme nous le verrons plus loin, l'ulcère de l'estomac est la conséquence du déséquilibre entre deux sécrétions, celle d'acide et pepsine et celle de mucus. Pour agir sur les mécanismes de défense, on peut supposer deux moyens: ou la stimulation de la muco-sécrétion gastrique, ou "l'amélioration" de la "tenue" de ce mucus à l'égard de la protéolyse.

Pour détecter l'action antiulcère d'une telle substance, il faut appliquer une technique de "screening" simple. Pour cela, nous induisons des ulcérations de l'estomac chez le rat, par stress et par administration orale de phénylbutazone et le critère de choix

d'une molécule donnée sera son action inhibitrice de ces ulcères. La validité du test à la phénylbutazone est contrôlée par une mesure de la motilité intestinale; si une molécule possède une activité de type spasmolytique, son activité sur l'ulcère induit par la phénylbutazone ne peut être retenue. Par contre, la méthode de "stress" (produit par exemple, par un séjour dans l'eau, voir plus loin) ne convient pas pour tester des substances ayant une action sur le tonus musculaire comme nous le verrons.

Pour toutes ces raisons - bien que les résultats soient très similaires d'une méthode à l'autre - il est préférable d'appliquer deux méthodes pour rechercher les substances antiulcères; et bien qu'une activité sur la motilité intestinale (test du repas de charbon) ne soit pas représentative d'une activité antiulcérante, sa mesure permet de prendre en considération ou de rejeter des résultats obtenus dans le cas d'ulcère induits par la phénylbutazone. Par contre, cette mesure n'est pas nécessaire lorsqu'on applique la méthode du "Stress".

Si une substance présente une activité anti-ulcère au premier "sreening", la réponse obtenue sera uniquement qualitative. Ensuite, un deuxième "screening" est nécessaire pour permettre des comparaisons: des doses différentes sont administrées afin d'obtenir une réponse quantitative.

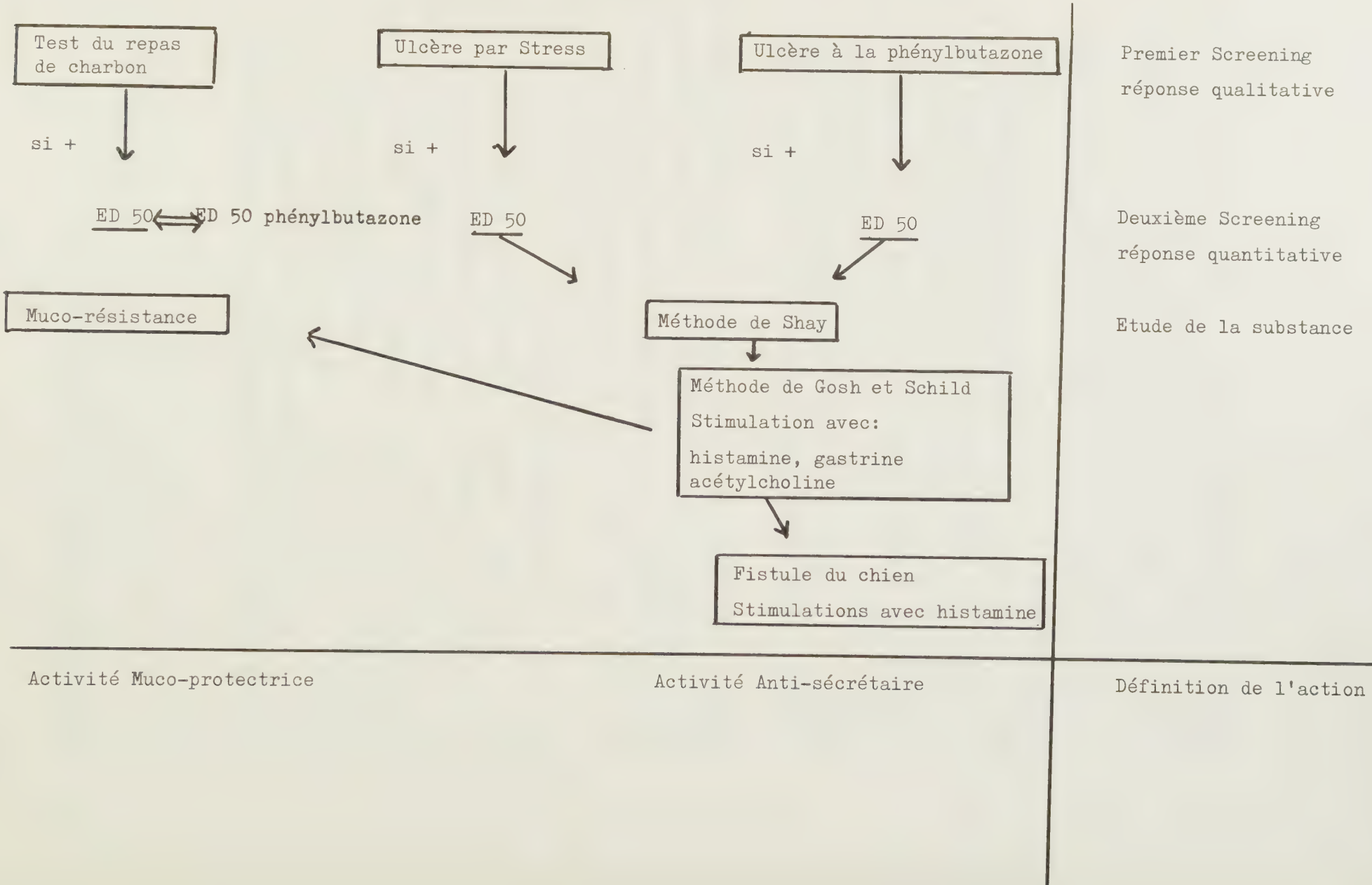
La démonstration d'une activité anti-ulcère d'une substance ayant été faite, il restera à définir le mécanisme intéressé et son niveau d'action

Deux types d'études sont réalisées:

a. Application du test de muco-résistance

b. Sécrétion de suc gastrique - méthode de Shay, chien porteur d'une fistule gastrique artificielle, méthode de Gosh et Schild - Chez le chien fistulé la sécrétion sera stimulée par des injections sous-cutanées d'histamine, tandis que dans la méthode de Gosh et Schild le stimulus est produit par des injections intra-veineuses d'histamine, de gastrine, ou d'acétylcholine.

Figure X - Organisation de la recherche d'un antiulcère



B. Mise au point d'une méthode de Stress

Rossi et Bonfils (4-5) ont démontré qu'il était possible de produire une ulcération de l'estomac par stress chez des rats mis en contrainte par immobilisation, leur méthode est basée sur les observations de Selye (37) sur le stress.Ce dernier auteur en décrivant les conditions qui provoquent cet état, indique en particulier la fatigue physique, qui résulte d'une déperdition d'énergie. D'autres auteurs ont essayé de combiner l'immobilisation et le froid - pour obtenir une très forte dépense d'énergie - sans pouvoir obtenir de meilleurs résultats.

Les améliorations à apporter sont de deux ordres:
D'une part augmenter la fréquence des ulcérations pour provoquer des ulcères chez tous les animaux témoins, d'autre part diminuer le temps de stress pour faciliter l'influence d'une substance anti-ulcère.

En tenant compte de ces nécessités et des résultats acquis, pour réaliser le "Screening" nous avons développé une technique simple et sûre, puisqu'en 6 heures, il se produit une ulcération nette et facilement influençable par les substances anti-ulcères chez tous les rats. Notre technique consiste à provoquer un stress en plongeant les animaux pendant 6 h. dans des bacs remplis d'eau $22,5^{oC}$ sur une profondeur de 7 cm. Dans ces conditions deux facteurs jouent:

- premièrement celui de la contrainte par l'attitude semi-dressé que les animaux s'imposent pour pouvoir respirer.
- deuxièmement, celui de la température (d'autres méthodes consistent à produire un stress par un froid important par exemple en chambre froide ou au réfrigérateur), la température adoptée dans

notre méthode n'est pas très basse, mais le contact de l'eau avec la peau provoque une déperdition thermique beaucoup plus élevée. A la fin de l'expérience, la température centrale des animaux est pratiquement en équilibre avec celle de l'eau des bacs.

Tableau 1 - Température rectale des rats soumis à deux méthodes de stress par le froid.

Stress par contention + froid (6 h à + 4°C 5 rats)	Stress dans 7 cm d'eau à 22,5°C (10 rats)	
	Avant	Après 6 h de stress
32,7°C	37,1°C	25,1°C

Matériel et méthode

L'installation (voir fig. XII - XIII) se compose de 6 grands bacs (h 40, L 60, l 40) en matière plastique, ils sont alimentés d'eau du robinet; pour que l'eau soit amenée à température constante, on utilise un ultra-thermostat à pompe (Haake, mod.R 22), réglé à 22°, 5C $\pm$ 0,3°C. L'eau de sortie de la pompe (alimentation) se rend à un distributeur cylindrique alimentant chacun des six bacs à l'aide d'orifices de diamètre intérieur de 1 cm (l'axe est à 4 cm du fond et à 8 cm du bord droit) qui se trouvent sur la largeur arrière des bacs; la sortie d'eau se trouve à l'avant du bac du côté de la largeur; l'axe de la sortie (diamètre 1,5 cm) est à 5 cm du fond et à 8 cm du bord gauche. Les orifices d'entrée et de sortie sont faits en métal chromé de forme plate et sans angle vif afin que les animaux ne puissent pas s'y agripper. L'eau des bacs est évacuée par un tuyau collecteur (diamètre intérieur 4 cm), relié lui-même à l'ultra thermostat par un raccord souple de même

diamètre, muni d'un filtre de gaze. Les bacs sont aussi équipés d'une évacuation d'eau placée au fond de chacun d'eux. Les expériences ont été faites dans des animaleries dépourvues de fenêtres, avec éclairage fonctionnantà heure fixe et à température réglée à 21°C ± 1°C. Lorsque la température de 22,5°C de l'installation est atteinte, des rats Wistar mâles de 140 à 160 g, à jeûn depuis 24 h, sont plongés par groupes de 10 dans les bacs.

Au cours de la première demie-heure, les animaux ont un comportement d'anxiété et cherchent à s'évader par des sauts; puis, ils se calment et par suite de la hauteur de l'eau dans les bacs (7 cm), ils doivent se tenir en position semi-dressée sur les pattes postérieures (fig. XIV), afin de maintenir leur tête hors de l'eau. Après 4 ou 5 heures, ils commencent à donner des signes de fatigue, 6 heures après le début de l'expérience, ils sont sortis de l'eau, puis sacrifiés.

Lorsqu'on recherche l'action protectrice d'une substance, celle-ci est injectée par voie sous-cutanée, ou orale, juste avant de plonger les animaux dans les bacs.

Les estomacs sont prélevés, ouverts par la petite courbure, rincés à l'eau et examinés. Tout estomac présentant une érosion nette et visible à l'oeil nu est considéré comme ulcéré. L'hyperhémie et les points hémorragiques ne sont pas pris en considération.

Pour que cette méthode donne de bons résultats, une condition est essentielle, c'est le respect de la température. Lorsqu'on s'en écarte dans un sens ou dans l'autre, on a une diminution de la fréquence des lésions. Si les conditions décrites sont respectées, ce test a l'avantage d'être parfaitement reproductible, aussi bien chez les animaux témoins que chez ceux qui ont reçu des substances anti-ulcères. Sur plus de 3. 000 témoins déjà utilisés, l'incidence de l'ulcération est de 100 %.

Exemples d'activité de substances

Tableau 2 : ED 50

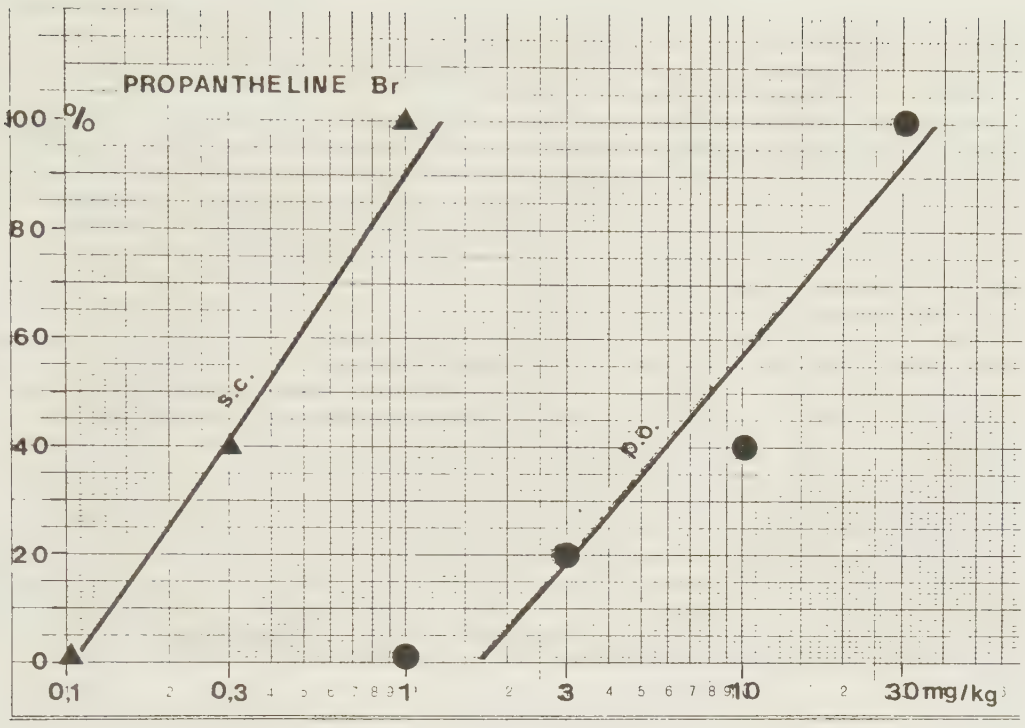
Tableau 3 : résultats détaillés

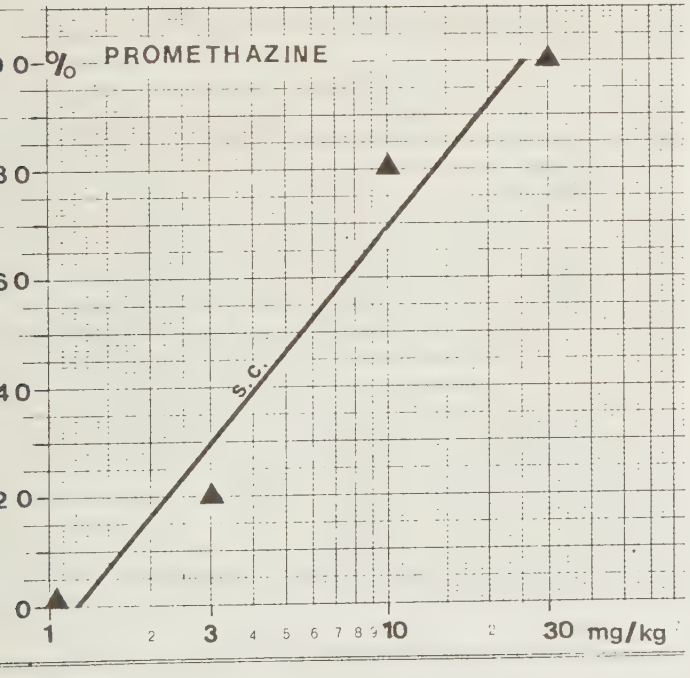
Figure XI : représentation graphique

Tableau 2

Substance	Per os	Sans cutanée
ATROPINE	0,7 mg/kg	0,5 mg/kg
Propanthélme Bromide	7 mg/kg	0,3 mg/kg
Prométhazine		6,8 mg/kg

Figure XI


PROPANTHELINE Br
100 %
80
60
40
20
0
s.c.
p.o.
0,1
0,3
1
3
10
30 mg/kg


0 %
PROMETHAZINE
s.c.
0
1
3
10
30 mg/kg

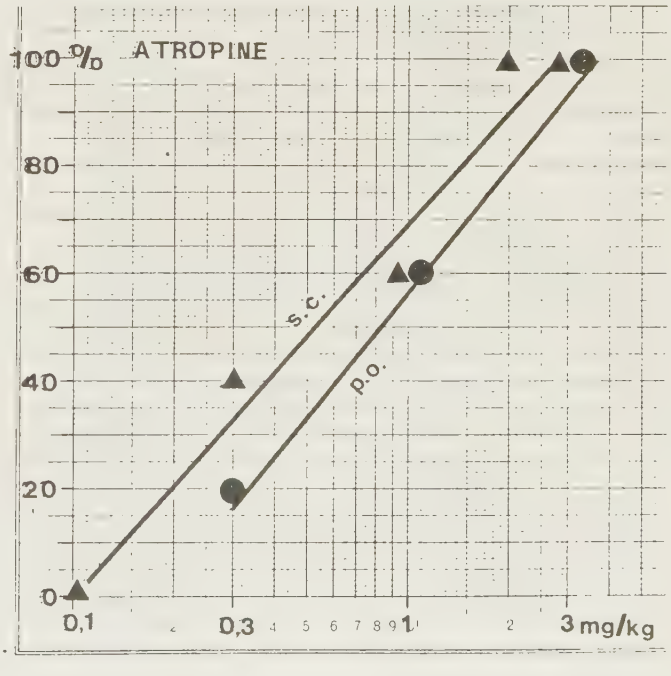
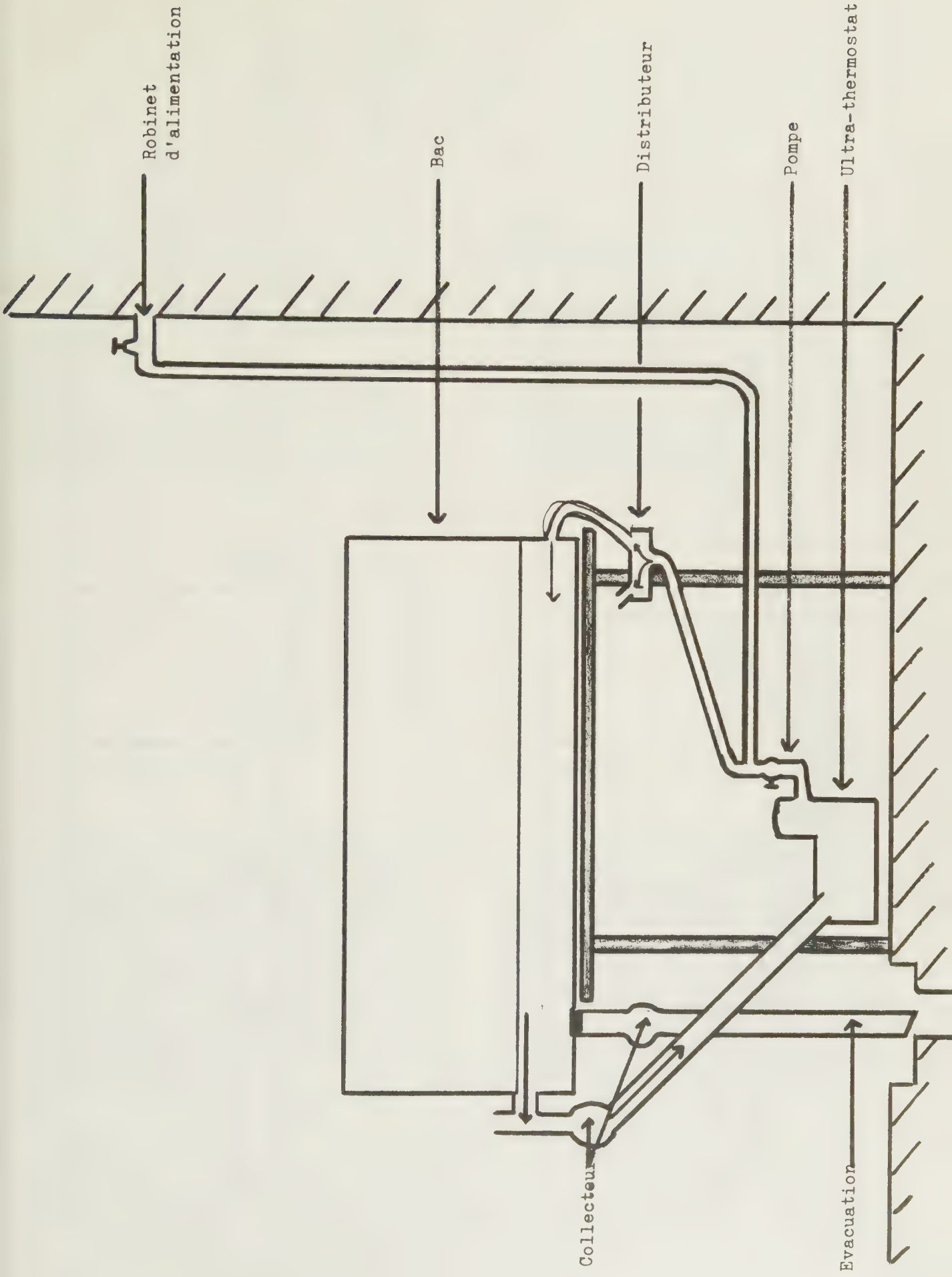

100 %
ATROPINE
80
60
40
20
0
s.c.
p.o.
0,1
0,3
1
3 mg/kg

Tableau 3

Substance	Voie	Dose mg/kg	Animaux protégés	Activité en %
Atropine	p.o.	0,3	1/5	20 %
"	"	1	3/5	60 %
"	"	3	5/5	100 %
"	"	10	5/5	100 %
"	s.c.	0,1	0/5	0 %
"	"	0,3	2/5	40 %
"	"	1	3/5	60 %
"	"	3	5/5	100 %
"	"	10	5/5	100 %
Propanthéline-Bromide	p.o.	1	0/5	0 %
"	"	3	1/5	20 %
"	"	10	2/5	40 %
"	"	30	5/5	100 %
"	s.c.	0,1	0/5	0 %
"	"	0,3	2/5	40 %
"	"	1	5/5	100 %
"	"	3	5/5	100 %
Prométhazine HCl	s.c.	1	0/5	0 %
"	"	3	1/5	20 %
"	"	10	4/5	80 %
"	"	30	5/5	100 %


Robinet
d'alimentation
Bac
Distributeur
Pompe
Ultra-thermostat
Collecteur
Evacuation

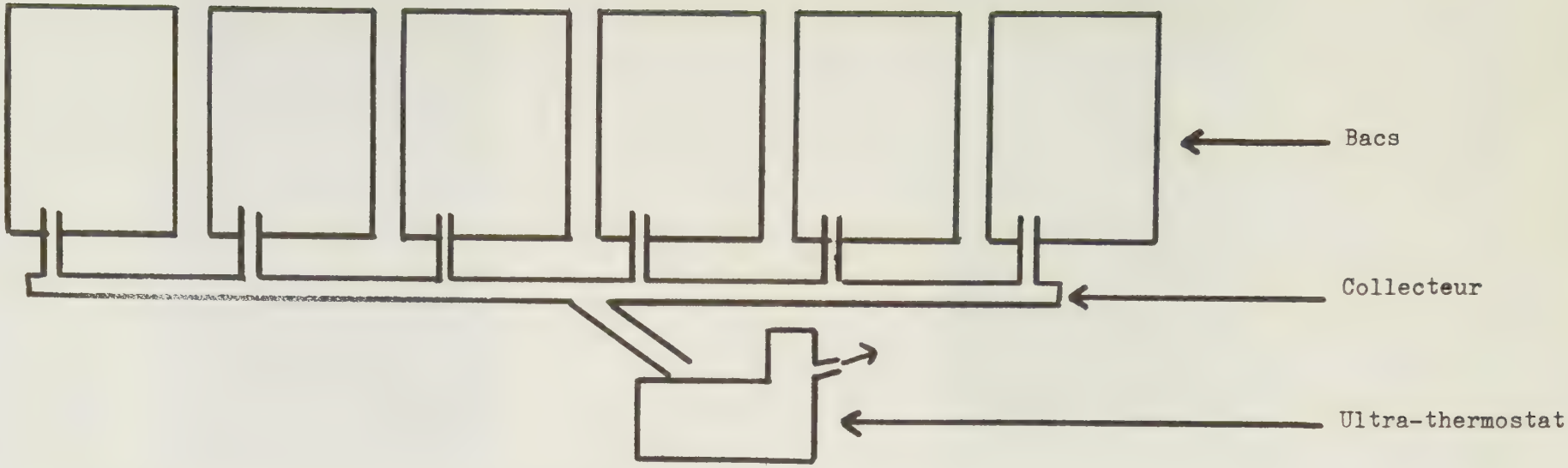
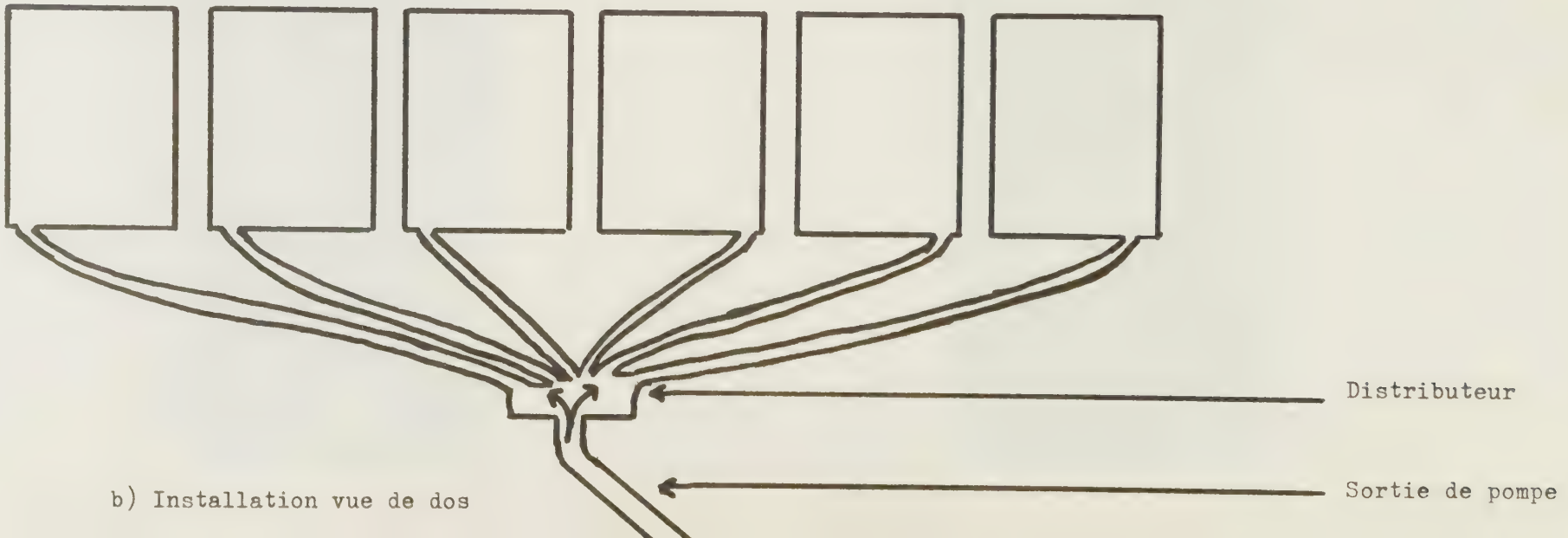
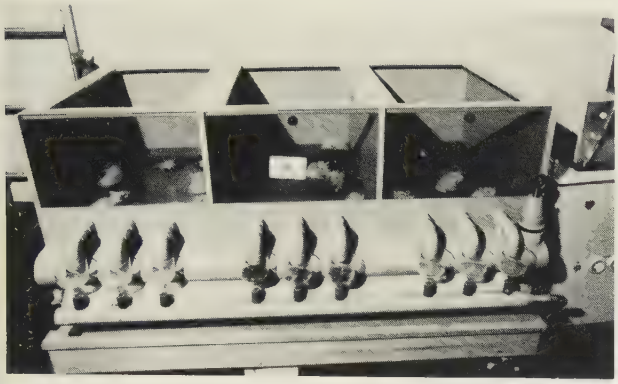


Figure XIII. - a) Installation vue de face



b) Installation vue de dos

Figure XIV Attitude des rats pendant le stress



a. Ensemble de l'installation

b. Rat normal

c. Rat traité à la prométhazine

d. Différence d'attitude du rat normal et du rat sous sédation

– Les vues b, c, d, ont été prises à travers un bac en plexyglass.

C. Mesure de la rupture de la barrière muqueuse protectrice par titrage de l'HCl (travail préliminaire)

Dans la méthode de muco-résistance précédente, la rupture de la barrière muqueuse protectrice est provoquée par vagotomie. Il serait intéressant d'avoir un autre moyen de mesurer la rupture provoquée par un autre procédé. Puisqu'on connaît l'effet des anti-inflammatoires (type Phénylbutazone) sur les muco-protéines (la littérature indique la diffusion des ions H^+ dans la muqueuse de patient atteint d'ulcère), l'introduction d'HCl dans l'estomac d'animaux pré-traités à la phénylbutazone devrait être suivie de la pénétration d'une partie de l'acide.

L'expérience a été réalisée sur des rats Wistar femelles de 160 à 180 g. Après un jeûne de 24 h, on injecte la solution de phénylbutazone préparée selon le procédé décrit précédemment. Une ou deux heures plus tard, on pratique une ligature, sous anesthésie à l'éther, à 5 mm du pylore sur le duodénum - afin d'éviter tout traumatisme de l'estomac - puis la plaie est refermée.Après le réveil des animaux (10 minutes) 3 ou 5 ml d'HCl 0,1 N sont introduits dans l'estomac, par sonde, à chacun des rats opérés.

Une heure après l'administration de l'acide, les animaux sont tués par inhalation de chloroforme; on prélève leur estomac; le volume de liquide contenu dans l'estomac est mesuré, puis filtré avant d'être titré.

Le titrage est fait avec NaOH 0,1 N de façon telle que la neutralisation de l'HCl se fasse à volume égal, le rouge de phénol servant

d'indicateur. Dans les premières expériences, le volume du liquide gastrique a été mesuré avant filtration, mais étant donné que le volume injecté ne peut diminuer mais seulement augmenter (résidus de boisson, sécrétion acide), cette détermination a été abandonnée par la suite. Dans le tableau 4, on rapporte le résultat de 4 expériences; chacune comprend deux groupes de 10 animaux:

a. témoins qui subissent le même traitement mais ne reçoivent pas de phénylbutazone
b. traités à la phénylbutazone

Expérience 1 Temps 0 Phénylbutazone 75 mg/kg i.p.

- tps. 2 h ligature du pylore
- tps. 2 h 10 per os HCl 0,1 N 5 ml/rat
- tps. 3 h 10 Prélèvement

Expérience 2 Temps 0 Phénylbutazone 75 mg/kg i.p.

- tps. 2 h ligature du pylore
- tps. 2 h 10 per os HCl 0,1 N 3 ml/rat
- tps. 3 h Prélèvement

Expérience 3 Temps 0 Phénylbutazone 55 mg/kg i.p.

- tps. 1 h ligature du pylore
- tps. 1 h 10 per os HCl 0,1 N 5 ml/rat
- tps. 2 h Prélèvement

Expérience 4 Temps 0 ligature du pylore + intra-duodénale ou i. p. de Phénylbutazone 10 mg/kg

- tps. 10 min. per os HCl 0,1 N 3 ml/rat
- tps. 1 h 10 Prélèvement

Tableau 4

		PHENYLBUTAZONE		TEMOINS	
		Liquide recueilli dans l'estomac en fin d'expérience			
		Volume en ml	Teneur en HCl 0,1N	Volume en ml	Teneur en HCl 0,1N
Expérience 1		6,2	3,8 ml P>0,01 *	6,0	5,0
Expérience 2		3,3	2,2 ml P>0,001*	3,7	3,2
Expérience 3			2,7 ml P>0,001*		4,5 ml
Expérience 4	I.D**		1,7 ml P> 0,01 *		2,9 ml
	I.P***		2,1 ml P>0,02 *		2,9 ml

* = "T" de Student

** I.D = intra-duodénale

***I.P = intra-péritonéale

Ces résultats mettent en évidence l'effet de la phénylbutazone sur la perméabilité aux H^+ de la muqueuse gastrique: en effet chez les témoins on retrouve pratiquement, dans l'estomac, la totalité de l'acide introduit, alors que chez les animaux traités une bonne partie a disparu.

Il s'agit d'expériences préliminaires, car la dose minimale active de phénylbutazone n'est pas encore déterminée, bien qu'en expérimentation animale on puisse considérer 10 mg/kg de phénylbutazone comme une faible dose. Mais dès à présent on peut dire que cette méthode présente de l'intérêt. - D'un point de vue théorique elle illustre les théories sur le rôle du mucus et sur l'aptitude

de la muqueuse à résister à sa sécrétion acide. - D'un point de vue pratique, elle permet l'étude d'une part d'agents anti-ulcères actifs au niveau des mécanismes de défense de la muqueuse; d'autre part de la tolérance gastrique à une substance donnée.

En effet, au cours de cet exposé, à plusieurs reprises, nous avons cité un anti-inflammatoire* utilisé couramment chez l'homme, qu'on peut aussi considérer comme un véritable agent ulcérogène - cette même action ulcérogène se retrouve chez toutes les substances à action similaire - ; dans de telles conditions, il est certainement intéressant de vérifier la puissance ulcérogène d'une substance nouvelle et éventuellement d'en chercher d'autres qui n'ont pas cet effet ou qui l'ont à un moindre degré.

*Dans ce travail on emploie la phénylbutazone qui est considérée comme étant anti-inflammatoire "fort", facile à se procurer, mais d'autres produits sont tout aussi actifs.

D. Résultats personnels obtenus en mettant en oeuvre plusieurs facteurs: ligature du pylore, vagotomie et introduction de suc gastrique dans l'estomac

---

Dans des expériences déjà publiées (33) et rappelées dans l'introduction (p. 24), nous avons confirmé que la vagotomie a un effet inhibiteur sur la sécrétion gastrique du rat dont le pylore a été ligaturé. La modification de la technique de Shay ainsi proposée - vagotomie et introduction d'un volume de suc gastrique standard - déclenche une ulcération caractéristique de toute la partie glandulaire de l'estomac. La muqueuse est criblée de très nombreux petits ulcères (diamètre de 0,5 à 1 mm) profonds et hémorragiques qui arrivent à se rejoindre pour former une érosion de grande surface et parfois même une perforation.

Nous avons voulu, en appliquant cette technique, doser les acides sialiques du contenu de l'estomac, pour obtenir des résultats plus objectifs. Nous avons utilisé des rats femelles ayant été mis en expérience (temps de séjour du suc gastrique compris entre 3 et 6 h), on a observé chez toutes un ulcère de l'estomac. Nous avons constaté que la présence de suc gastrique (pepsine/HCl) est indispensable; sa substitution par une solution de HCl 0,1 N aboutit seulement à une hypérhémie diffuse sans aucune érosion; sa substitution par du NaCl 0,9 % n'a provoqué aucune modification. Dans cette expérience le taux des acides sialiques dissous dans le sérum physiologique a été trouvé statistiquement plus bas ($P < 0,001$) que celui dissous dans le suc gastrique (tableau 5).

Le volume de 7 ml de suc gastrique utilisé est un seuil critique: l'introduction de 5ml de suc gastrique dans l'estomac a pour conséquence de ne pas provoquer 100 % d'ulcération chez les animaux,

l'introduction de 10 ml provoque une surdistention du rumen qui sera suivie d'une ulcération perforante localisée à cette dernière partie sans que le "Fundus" soit atteint.

Tableau 5 - Action sur le taux d'ulcération et sur le taux d'acides sialiques présents dans le liquide gastrique de trois solutions introduites dans l'estomac à la place du suc gastrique.

Agent introduit dans l'estomac	Suc gastrique (pepsine HCl)	NaCl 0,9 %	HCl 0,1 N
Taux d'ulcération (sur 10 animaux)	10/10	0/10	0/10
Taux d'acides sialiques (µM/ml)	0,028 ($p<0,001$)	0,012	--

Application de la technique pour tester l'action de certaines substances

Atropine

Soit par traitement aigu (5 mg/kg administrés par voie sous-cutanée 30 min. avant l'opération), soit par traitement prolongé (administration par voie sous-cutanée matin et soir 5 mg/kg pendant 3 jours), on n'a observé comme on s'y attendait, aucune inhibition de l'ulcération après introduction de suc gastrique pendant 3 ou 6 h; au contraire, nous avons pu constater une aggravation nette des ulcères, bien que le phénomène soit difficilement "quantifiable". Dans le cas de traitement prolongé indiqué ci-dessus, nous avons constaté un accroissement significatif du taux des acides sialiques dans le suc gastrique ou dans le sérum physiologique introduit dans l'estomac

pendant 1 h (ces résultats ont été confirmés dans une deuxième série d'expériences). Dans la muqueuse, au contraire, on n'a observé aucune modification significative de la teneur en acides sialiques (tableau 6). Ces résultats, obtenus avec un anti-cholinergique, servent à prouver la fonction vagale sur le maintien d'une défense contre la protéolyse de l'estomac.

Phénylbutazone

Le traitement consiste à administrer une dose unique de 75 mg/kg par voie intrapéritonéale. Le temps de séjour du suc gastrique ou du sérum physiologique dans l'estomac a été d'une heure. L'analyse du suc gastrique et de la muqueuse n'a pas montré de modifications de la teneur en acides sialiques même lorsque le temps de contact est accru, (2 ou 4 h après administration de la phénylbutazone). Lorsqu'on introduit dans l'estomac du sérum physiologique au lieu de suc gastrique, on observe une diminution significative du taux des acides sialiques dans le contenu gastrique 2 h après le traitement (diminution confirmée par répétition de l'expérience); par contre, le taux reste constant dans la muqueuse; on peut faire les mêmes observations dans le cas où l'expérience dure 4 h (tabl.7). Ces faits suggèrent l'existence d'une inhibition de la production du mucus vraisemblablement en relation avec le taux de phénylbutazone dans le sang. L'application intra-péritonéale de 75 mg/kg de phénylbutazone a toujours déclanché en 7 h la formation d'ulcères profonds et hémorragiques de la muqueuse. Cependant, l'analyse du taux des acides sialiques de la muqueuse ulcérée n'a montré aucune différence significative par rapport aux rats normaux.

Tableau 6

Influence de l'atropine sur le taux d'acides sialiques (µMol/ml; valeur moyenne ± S.E.M.) du contenu gastrique (suc gastrique ou sérum physiologique) et de la muqueuse gastrique.

Agent introduit dans l'estomac	Expérience No	Atropine			Témoins		
		contenu gastrique	muqueuse	nombre d'animaux	contenu gastrique	muqueuse	nombre d'animaux
Suc gastrique	1	0,024 + 0,002 ($p<0,0\bar{0}1$)	0,16 + 0,03 (n.s.)	10	0,016 ± 0,001	0,12 ± 0,01	10
	2	0,027 + 0,002 ($p<0,0\bar{2}$)	0,23 + 0,03 (n.s.)	10	0,017 ± 0,002	0,25 ± 0,04	10
NaCl 0,9 %	3	0,015 + 0,001 ($p<0,0\bar{0}1$)	0,25 + 0,04 (n.s.)	10	0,008 ± 0	0,26 ± 0,04	9
	4	0,013 + 0,001 ($p<0,0\bar{0}1$)	0,22 + 0,03 (n.s.)	10	0,008 ± 0	0,26 ± 0,04	10

Tableau 7

Influence de la phénylbutazone sur le taux d'acides sialiques (µM/ml; valeur moyenne ± S.E.M.) du contenu gastrique (suc gastrique ou sérum physiologique) et de la muqueuse gastrique.

Agent introduit dans l'estomac	Expérience No	Temps après traitement	Phénylbutazone			Témoins		
			contenu gastrique	muqueuse	nombre d'animaux	contenu gastrique	muqueuse	nombre d'animaux
Suc gastrique	1	2h	0,025 ± 0,003 (n.s.)	0,23 ± 0,05 (n.s.)	8	0,020 ± 0,002	0,13 ± 0,02	8
	2	2h	0,020 ± 0 (n.s.)	0,09 ± 0,01 (n.s.)	8	0,021 ± 0,003	0,11 ± 0,01	8
	3	4h	0,027 ± 0,005 (n.s.)	0,08 ± 0 (n.s.)	7	0,023 ± 0,003	0,10 ± 0,01	8
NaCl 0,9 %	4	2h	0,007 ± 0,001 ($p<0,05$)	0,09 ± 0,01 (n.s.)	8	0,011 ± 0,001	0,10 ± 0,02	8
	5	2h	0,006 ± 0 ($p<0,002$)	0,08 ± 0,01 (n.s.)	8	0,008 ± 0	0,09 ± 0,01	8
	6	4h	0,137 ± 0,003 (n.s.)	0,14 ± 0,03 (n.s.)	8	0,097 ± 0,001	0,16 ± 0,04	8

Ces expériences dans lesquelles une substance à action ulcérogène est essayée en prenant pour test celui qui est destiné à rechercher un produit anti-ulcère ont pour but de comprendre les mécanismes du test et de connaître les réponses que l'on peut attendre avec cette méthode expérimentale.

Substances anti-ulcères

L'administration sous-cutanée de tripelemmanine 30 min. avant l'opération empêche l'ulcération. La ED 50 (environ 30 mg/kg) est cependant située à un niveau subtoxique. Pour cette raison, il est impossible de déterminer la ED 100. Des expériences sont en cours pour expliquer le mécanisme de cette protection. La phénoxybenzamine (40 mg/kg par injection intra-duodénale), l'α-méthyldopa (40 mg/kg per os), la prométhazine (40 mg/kg par voie sous-cutanée) et la propanthéline bromide (20 mg/kg par voie sous-cutanée) n'ont aucune influence ni sur la formation d'ulcères ni sur les taux d'acides sialiques.

Interprétation

Comme un patient atteint d'ulcère présente souvent moins d'acidité dans l'estomac qu'un individu sain, on a pensé qu'il pouvait se produire une diffusion de HCl dans les couches internes de l'estomac: c'est la théorie de la "back diffusion" (9-10) qui repose donc sur les propriétés de perméabilité de la muqueuse. Quant à la théorie vasculaire, il est possible qu'une thrombose, en privant une zone de l'estomac de vascularisation, entraîne une dégénérescence localisée de la muqueuse et par suite, l'érosion de cette zone par le suc gastrique. Il demeure certain qu'en l'absence de suc gastrique - quel que soit l'état de la muqueuse - il n'y a pas

d'ulcération, puisque la protéolyse joue un rôle fondamental dans la formation de l'ulcère d'estomac. Chez le rat de Shay avec vagotomie, l'estomac garde un aspect normal, à cause du manque de sécrétion, malgré la rupture de la barrière muqueuse.

On ne peut donc pas opposer la théorie de muco-résistance aux autres théories, mais c'est bien cette muco-résistance qui semble avoir le rôle dominant.

Pour déterminer l'action des substances testées, l'évaluation est délicate. Des auteurs ont essayé de mesurer l'ulcération en tenant compte du nombre d'ulcères et de leur surface. L'inconvénient majeur de cette méthode est la subjectivité, et la difficulté du choix du critère dominant. Après études avec l'atropine -qui malgré son effet sur la sécrétion de mucus est le type de substance le plus employé chez l'homme pour le traitement des ulcères - dans le cas de stress et dans l'ulcère à la phénylbutazone, on voit que l'on arrive à inhiber complètement les ulcérations. Ce fait permet d'accepter la méthode dite du "tout ou rien", c'est-à-dire, que l'évaluation se fera en comptant dans chaque série le nombre d'animaux ne présentant aucune érosion visible à l'oeil nu. Cette méthode permettra même d'établir la ED. 50 d'une substance. Le manque de référence connue comme facteur anti-ulcère actif sur la synthèse des muco-protéines incitera à choisir des critères moins sévères que le "tout ou rien" et seul une méthode d'analyse peut permettre une appréciation objective. En se référant au test de sécrétion du suc gastrique on peut facilement mesurer le volume ou la teneur en HCl de cette sécrétion,mais la difficulté est plus grande dans le cas d'ulcère.

On peut aussi mesurer la quantité de mucus solubilisé exprimée en acides sialiques ou bien celle des ions H^+ diffusés.

III. DISCUSSION ET INTERPRETATION

Des résultats de l'application de la méthode de muco-résistance que nous avons publiés précédemment (vagotomie + suc gastrique), permettent de mieux comprendre la pathogénèse de l'ulcère d'estomac; nous avons pu en particulier mettre en évidence la fonction vagale sur l'intégrité de la muqueuse gastrique. Dans ces études, l'action ulcérante des anti-inflammatoires a aussi été considérée, et le mécanisme de leur action sur l'estomac a été examiné. Enfin la modification que nous avons apportée à la méthode de Shay (ligature du pylore), a permis d'expliquer l'ulcération obtenue par cette méthode, ce qui n'avait jamais été fait antérieurement. Dans ces recherches, où l'on veut définir l'activité -favorable ou défavorable - d'une substance, l'évaluation de l'ulcération est un point très important. La méthode consistant à classifier les érosions selon leur nombre, surface, et profondeur, a été écartée en raison de sa subjectivité et en raison des grandes différences d'aspect des estomacs dans un groupe de rats témoins. Pour un test d'ulcère simple (stress, ulcère à la phénylbutazone), la méthode du "tout ou rien" est pleinement satisfaisante, puisqu'on peut démontrer l'activité de produits anti-sécrétoires. Par contre pour détecter une activité supposée et peu connue d'une substance, nous avons voulu utiliser une méthode objective et sensible aux premières étapes de l'érosion. Dans le travail déjà publié (33), la détermination du taux des acides

sialiques dissous dans le suc gastrique ou le NaCl 0,9 % paraît être un bon moyen pour "quantifier" l'érosion de la couche de mucus protégeant normalement la muqueuse gastrique. Ce dosage a déjà été décrit par Menguy (23-28) dans le but d'étudier l'influence des anti-inflammatoires sur l'estomac. Au cours de notre travail, l'action corrosive du suc gastrique se traduit par la présence d'une quantité d'acides sialiques plus importante que celle provoquée par l'introduction d'une solution de NaCl 0,9 % dans l'estomac. Si les déterminations des acides sialiques sont proportionnelles aux quantités de mucus dissoutes dans le suc gastrique ou le NaCl 0,9 % présent dans l'estomac, la technique d'analyse appliquée à la muqueuse s'est montrée inadaptée en raison des énormes quantités de 2-désoxyribose présent, libérées au cours de l'hydrolyse du tissu entier, qui interfèrent avec le dosage des acides sialiques. C'est la raison pour laquelle on a dû renoncer à obtenir des informations sur l'état de la muqueuse dans différentes étapes de la formation du mucus: le dosage des acides sialiques d'après Warren est inappliquable à la muqueuse gastrique. L'action des substances à activité pharmacodynamique connue n'a donc pu être déterminée que sur le contenu gastrique.

Cependant la mesure de l'ulcération par une analyse biochimique n'est pas pleinement satisfaisante. Premièrement, nous ne pouvons pas expliquer que l'agression de la muqueuse appauvrie en mucus par de la phénylbutazone par le suc gastrique dans les conditions décrites, ne puisse être différenciée par la teneur en acides sialiques du suc gastrique de celle observée chez des rats témoins. Même l'hypothèse, selon laquelle l'agression par le suc gastrique atteint les couches les plus profondes de la muqueuse, en libérant des quantités de 2-désoxyribose qui interfèrent avec la coloration due aux acides sialiques doitêtre rejetée, car l'étude du spectre d'absorption contredit cette hypothèse en ne révélant aucune trace de 2-désoxyribose. Si le dosage des acides sialiques pour déterminer la fraction de mucus enlevé de la muqueuse gastrique est une méthode

plus sensible que l'observation macroscopique on se heurte toutefois à une difficulté d'interprétation des résultats: une augmentation du taux des acides sialiques par rapport aux témoins, peut résulter soit d'une plus forteproduction de mucus, soit de la dégradation de la barrière muco-protectrice et de sa disparition.

La même ambigüité se retrouve dans le cas d'une diminution du taux des acides sialiques: elle peut signifier soit une diminution de la production du mucus, soit un renforcement de la résistance de la barrière muqueuse.

Pour palier ces inconvénients, une autre méthode a été développée: le titrage d'une quantité d'HCl connue, après séjour dans l'estomac de rat soumis à des conditions ulcérogènes, apporte la confirmation de la première expérience sur les effets de la phénylbutazone; en ce qui concerne l'atropine, des expériences complémentaires doivent être entreprises, bien qu'un essai a déjà montré l'activité de cette dernière sur la muqueuse gastrique. L'application de cette technique au laboratoire est possible puisqu'elle apporte les mêmes informations que d'autres méthodes: telles que celles qui sont basées sur l'incorporation de radio-sulfates, la mesure de sodium par photométrie à flamme, ou le titrage des acides sialiques, tout en ayant recours à des manipulations beaucoup plus simples.

Il est souhaitable de combiner ces techniques de dosage pour "quantifier" à la méthode d'observation de la muqueuse. Les résultats obtenus après administration de tripélénamines démontrent que,malgré les difficultés d'interprétation, la mesure de la résistance de la muqueuse gastrique par la méthode de Shay, le rat ayant subi une vagotomie et ayant reçu du suc gastrique dans son estomac, peut être appliquée à l'étude des substances anti-ulcéreuses. En effet, on peut espérer trouver une substance capable de prévenir cette ulcération.

Grâce aux références trouvées dans la littérature, la physiologie de l'estomac est mieux connue. Ces connaissances nous ont incités à mieux adapter les tests du laboratoire, et à perfectionner les moyens de mesure. Cette expérimentation nous a permis d'acquérir de nouvelles informations. Davenport (9-10), Overholt (30-32) et Skoryna, ont démontré l'existence d'un film de mucus chargé électronégativement, imperméable aux ions H^+ et constituant une barrière protectrice contre l'action du suc gastrique. La rupture de cette barrière sera suivie d'une diffusion d'ions H^+ "Back diffusion" provoquant une nécrose. L'action des enzymes digestives entraînent une atteinte de la muqueuse, c'est-à-dire la formation d'ulcère. Overholt (30-32) et Mozsik (29) ont prouvé que la vagotomie ou l'injection d'atropine (vagotomie chimique) altère la barrière "muqueuse protectrice". Il est ainsi démontré que le nerf vague a un double rôle stimulateur: sécrétion d'acide, sécrétion de mucus. Il faut donc admettre qu'il existe un équilibre constant sécrétion acide / protection. En tenant compte de cet équilibre et en comparant les résultats obtenus par cette méthode à ceux obtenus par celle de Shay, on peut expliquer pourquoi l'estomac du rat dont le pylore a été ligaturé, présente des ulcérations du rumen et non de la muqueuse.

Lorsque le stimulus vagal est détruit, l'estomac ne secrète ni suc gastrique, ni mucus; par contre, lorsque du suc gastrique recueilli chez un rat donneur est réintroduit ultérieurement dans l'estomac d'un rat receveur, l'équilibre sécrétion / protection est rompu et le suc gastrique attaque la muqueuse.

Lorsqu'on applique la méthode de Shay, la muqueuse conserve toutes ses fonctions et peut se protéger contre l'accumulation de suc gastrique; par contre, le rumen se distendra de plus en plus et finira par atteindre des conditions de distension anormale et présentera une ulcération, tandis que la partie glandulaire, grâce

à sa musculature, ne se distendra pas et résistera à l'action corrosive du suc gastrique; elle restera donc normale. Le facteur mécanique n'a jamais été suffisamment souligné pour expliquer la sélectivité de l'ulcération sur le rumen, tandis que le facteur sécrétoire a toujours été pris en considération, peut-être de façon exagérée. Pour prouver l'importance du facteur mécanique, l'expérience telle que nous l'avons décrite, a été faite mais en introduisant 10 ml de suc gastrique au lieu de 7 ml. Dans ces conditions, en moins d'une demie-heure, le rumen est attaqué et présente un aspect similaire à celui observé chez le rat de Shay. En comparant les résultats de ces deux méthodes, il ressort que chez le rat de Shay, 6 à 8 heures après la ligature du pylore l'estomac est distendu dans des conditions similaires à celles du rat dont on a coupé le nerf vague et soumis à l'action du suc gastrique, cependant l'estomac du rat de Shay gardera son aspect normal, car la fonction vagale étant conservée, la sécrétion du mucus persistera et la défense de la muqueuse sera assurée.

Après ces considérations, on peut dire que le mécanisme de formation de l'ulcère de Shay résulte seulement d'une distention non-physiologique affectant un tissu dépourvu de muco-sécrétion propre. Au contraire, le mécanisme de formation de l'ulcère de la muqueuse chez le rat soumis à une vagotomie et traité selon la technique déjà décrite est dû à une rupture de la barrière muco-protectrice induite par la vagotomie. Cette démonstration du rôle facteur mécanique dans l'ulcération du rumen chez le rat au pylore ligaturé selon Shay, justifie le fait que nous n'employons cette méthode que pour étudier la sécrétion acide, et nous autorise à rejeter ce test pour la recherche des produits anti-ulcères d'estomac.

Dans nos essais de substances chez le rat présentant une vagotomie dans l'estomac duquel on introduit du suc gastrique ou du sérum physiologique, ce sont l'atropine et la phénylbutazone qui ont donné

les résultats les plus intéressants. Les résultats obtenus après administration de phénylbutazone sont en accord avec les données actuelles. La phénylbutazone provoque une chute du taux des acides sialiques dans le sang et dans d'autres tissus. En ce qui concerne la muqueuse gastrique, Menguy (23-28) a trouvé que l'administration de phénylbutazone chez le chien était suivie d'une diminution des hexosamines et des acides sialiques. En conclusion, l'action ulcérante de la phénylbutazone serait attribuable à un manque de production de mucus et à son altération. C'est pour cette raison, que, dans nos expériences, le sérum physiologique en contact avec une muqueuse appauvrie en mucus par suite de l'action de la phénylbutazone contiendra moins d'acides sialiques.

Les résultats obtenus après administration d'atropine ont souligné l'importance de l'innervation vagale sur le maintien de la barrière muco-protectrice. L'observation grossière, faite à l'oeil, de l'aggravation de l'ulcère chez les rats traités par l'atropine a été confirmée par les analyses du mucus dissous dans le contenu gastrique. La vagotomie chimique, produite par l'atropine,en altérant les caractéristiques de résistance du mucus serait responsable de la diminution de celui-ci et des hautes valeurs d'acides sialiques trouvées.

Ces résultats montrent donc un aspect de l'action pharmacologique de l'atropine qu'il serait certainement possible de démontrer aussi pour d'autres anti-cholinergiques, peu connus dans des études similaires.

Par rapport aux données connues, le seul fait qui n'a pas été vérifié, est le réflexe distrophique entre le duodénum et la muqueuse gastrique. En effet, dans ces méthodes dérivées de celle de Shay, la ligature du pylore se place sur le duodénum à 7 mm du pylore. D'après Zavodskaya, cette compression du pylore doit

entraîner un affaiblissement de la muqueuse par un processus de distrophie. On pourrait dire que le délai d'une heure est insuffisant pour vérifier ces données, mais d'autre part on a vu, avec la phénylbutazone, l'atropine, la vagotomie, que la rupture de la barrière intervient très rapidement. Les mécanismes responsables de la formation d'ulcère de l'estomac posent encore un problème non résolu. On commence seulement depuis quelques années à préciser le rôle du nerf vague, et notre travail aura contribué à démontrer son action trophique sur la muqueuse stomacale. Le phénomène observé par Shay s'expliquait difficilement; certains pensaient à un stress (anxiété de l'animal dont l'estomac est obstrué par la ligature); Zavodskaya l'interprétait comme résultant d'un mécanisme de réflexe de dégénérescence ayant pour origine la ligature du pylore. Si cette étude ne contredit pas le réflexe de dégénérescence, elle démontre qu'il n'est pas en cause dans l'érosion du rumen et on peut s'étonner que dans la méthode de ligature du pylore, complétée par une administration orale d'HCl, on retrouve la quantité d'acide initiale malgré ce réflexe dû à la ligature, supposé capable de "distrophier" la muqueuse gastrique.

Les questions qui se posent encore aux chercheurs, sont de définir et surtout de prouver le rôle des divers médiateurs chimiques qui interviennent dans les sécrétions de l'estomac, d'expliquer les inter-actions histamine/gastrique qui suivent la stimulation cholinergique. On est en droit de penser, puisque maintenant il est prouvé que le nerf vague stimule la sécrétion acido-peptique et la production de mucus, qu'il existe un médiateur pour chacune de ces sécrétions. L'histamine semblerait être spécifique de la sécrétion acide. Le rôle des gastrines, gastrones et entéro-gastrones est beaucoup moins clair. Est-ce que l'une d'elles stimule directement la sécrétion de mucus, ou reste-t-il encore un médiateur inconnu ? La réponse viendra certainement dans un avenir assez proche.

Un autre aspect de ce travail est l'application de cette méthode dans le but de trouver des substances anti-ulcères. L'ulcère résulte d'une perte plus ou moins localisée de moyens de défense de l'estomac contre l'action protéolytique du suc gastrique, ce qui est une véritable auto-digestion de l'estomac. Une fois cette auto-digestion commencée, la guérison spontanée est assez difficile, puisque la sécrétion corrosive se fera à intervales réguliers (repas). Le seul moyen d'aider l'estomac à se cicatriser sera de neutraliser ou de bloquer la sécrétion de suc gastrique. Pour cela il existe deux types de remèdes: les tampons anti-acides (gels d'aluminium) ou les anti-cholinergiques, anti-sécrétoires puissants (atropine, pro-banthine, clidinium, ...). L'utilisation de tampons neutralisant la sécrétion acide présente l'inconvénient d'agir de façon momentanée. Chez un patient souffrant d'un ulcère d'estomac et traité par des anti-acides, il y aura des sécrétions qui risquent d'intervenir entre les prises de médicament en particulier pendant la nuit. Les anti-sécrétoires se sont révélés peu actifs, cela peut s'expliquer par leur activité sur la sécrétion du mucus comme nous l'avons vu avec l'atropine. On commence à entrevoir la possibilité d'utiliser d'autres familles pharmacologiques: dans des expériences menées au laboratoire, les anti-histaminiques (prométhazine) montrent une activité assez nette anti-sécrétoire. Un polysaccharide sulfaté (carragénine dégradée de Glaxo-Evans) est déjà vendu comme gel protecteur, mais il paraît jouir d'une activité anti-sécrétoire qui n'est pas encore bien précisée. Si aucun de ces traitements n'arrive à guérir le patient, il ne restera plus que la voie chirurgicale: vagotomie avec résection ou ablation de l'estomac.

Dans cette étude nous avons vu aussi l'activité défavorable des anti-inflammatoires sur l'estomac; seule la phénylbutazone a été testée par nous-mêmes, mais Menguy (23-28) a démontré que l'activité anti-inflammatoire s'accompagne d'une activité ulcérante.

Un caractère commun à l'estomac et aux tissus atteints de rhumatismes inflammatoires est la présence de mucopolysaccharides. Ces derniers qui entrent dans la composition chimique du mucus, augmentent en cas d'inflammation du tissu inflammé. Coppi (7) a obtenu chez l'animal une augmentation des acides sialiques dans la patte inflammée par rapport à la patte saine, et une diminution si l'animal est traité à la phénylbutazone. Bien qu'on ne puisse pas tirer de conclusions, il est intéressant de noter que Coppi a injecté de la carragénine pour obtenir cette inflammation.

Cet aspect de l'action des anti-inflammatoires, souligne l'intérêt de la méthode de mesure de la "back-diffusion" par titrage de l'HCl. Cette méthode permet de déterminer de manière précise la tolérance gastrique d'une substance de ce type. Au laboratoire, elle peut servir à chercher un anti-inflammatoire n'ayant pas ou peu d'effet ulcérogène.

IV. CONCLUSION

Dans ce travail, nous avons tout d'abord cherché a produire des ulcères expérimentaux, de façon rapide et reproductible. Nous avons voulu tester des substances pour savoir si elles présentaient une activité anti-ulcère, en essayant de définir le niveau pharmacologique de leur action en particulier au sujet de la résistance de la muqueuse.

Ceci nous a conduit à revoir l'organisation d'un laboratoire se préoccupant de ces problèmes et à introduire deux nouveaux tests: une méthode de stress pour la détection rapide d'ulcères nouvellement formés et une méthode basée sur les propriétés de muco-résistance pour définir l'action anti-ulcère de diverses drogues. La mise au point de ces méthodes nous a demandé une mise au point bibliographique de la pathogénèse de l'ulcère d'estomac, et de reconsidérer les méthodes expérimentales connues. Dans la pathogénèse de l'ulcère deux points ont retenu notre attention: 1^{o}) les anti-inflammatoires ont tous des propriétés ulcérogènes et sont tous capables de ralentir la synthèse des mucoprotéines au niveau de l'estomac. 2^{o}) le rôle du nerf vague d'une part sur la sécrétion du suc gastrique (rôle déjà bien établi) et d'autre part sur le maintien de l'intégrité de la muqueuse gastrique face à la sécrétion acide.

Dans cette étude ces deux points ont été vérifiés. Ces observations obligent à reconsidérer la médication de l'ulcère par les anti-cholinergiques. Comme certaines substances peuvent influencer (défavorablement) la résistance de la muqueuse gastrique, il est intéressant de rechercher des substances capables de renforcer cette résistance. Par ailleurs les techniques utilisées pour démontrer cette action des anti-inflammatoires peuvent servir à la sélection de produits nouveaux n'ayant pas un effet défavorable.

Ces recherches ont, en outre, servi à préciser les mécanismes en cause au cours de l'application de la méthode de Shay, qui est déjà ancienne, mais qui reste une des plus employées dans la recherche des antiulcères, à tort cependant étant donné qu'elle ne produit pas d'ulcères du "Fundus", mais l'ulcération du rumen, qui n'a rien de physiologique, ce que nous avons montré dans ces expériences; par contre, la méthode de Shay pourrait être utilisée dans des études sur la sécrétion acide.

Notre contribution, à l'étude de l'ulcère reste minime, il reste en effet beaucoup d'inconnues pour expliquer sa formation. Le rôle exact du nerf vague n'est pas encore bien défini, on ne connaît pas le mécanisme de la formation du mucus; en outre il serait intéressant de trouver des substances capables d'accélérer la formation des muco-protéines pour protéger la résistance de la muqueuse de l' estomac.

V. BIBLIOGRAPHIE

1. Beeken, W.L. - Gastroenterology 53, 894 (1967).
2. Bernard, Cl. - Leçons de physiologie expérimentale appliquées à la médecine (Vol. 2) Baillères, Paris (1856).
3. Berg, B.N. - Archiv Surg. 54, 58 (1947).
4. Bonfils, S. - Rev. Franç. Etudes Clin. et biol. XI, 343 (1966).
5. Bonfils, S. - Arch. Mal. App. Digestif 48, 449 (1959).
6. Cabanne, F. - Laval Medical 37, 387 (1956).
7. Coppi, G. - J. Pharm. Pharmac. 20, 313 (1968).
8. Croft, D.N. - Brit. Med. J. 2, 897 (1963).
9. Davenport, H. - Gastroenterology 47, 142 (1964).
10. Davenport, H. - Gastroenterology 49, 189 (1965).
11. Gerard, A. - Archives de Biologie T 79 fasc. 1 (1968).
12. Gosh, M.N. et Schild, O. - Brit. J. Pharmacol. 13, 54 (1958).
13. Gottschalk - Bull. Soc. Chim. Biol. 42, 1387 (1960).
14. Jerzy-Glass, G.B. - Ann. N.Y. Acad. Sc. 140, 804 (1967).
15. Lambert, R. - Thèse Lyon (1958).
16. Lambert, R. - Digestion 2, 187 (1969).
17. Levrat, M. - Arch. Mal. App. Digestif 42, 532 (1953).
18. Levrat, M. - Arch. Mal. App. Digestif 43, 226 (1953).
19. Levrat, M. - Rev. Lyonnaise de Med. 7, 1 1o9 (1958).
20. Levrat, M. - Gastroenterologia 91, 109 (1959).

21. Levrat, M. - Gastroenterologia 94, 273 (1960).

22. Mann, F.C. et Williamson - An. Surg. 77, 409 (1923).

23. Menguy, R.B. - Surg. Forum. 15, 315 (1964).

24. Menguy, R.B. - Gastroenterology 48, 342 (1965).

25. Menguy, R.B. - Surg. Gyn. Obstet. 120, 92 (1965).

26. Menguy, R.B. - Am. J. Dig. Dis. 12, 582 (1967).

27. Menguy, R.B. - Am. J. Dig. Dis. 12, 862 (1967).

28. Menguy, R.B. - Proc. Soc.Exp. Biol. Med. 125, 1108 (1967).

29. Mozsik, G. - Pharmacology 2, 45 (1969).

30. Overholt, B.F. - Clin. Res. 16, 289 (1968).

31. Overholt, B.F. - Gastroenterology 54, 182 (1968).

32. Overholt, B.F. - Gastroenterology 56, 651 (1969).

33. Pallarès, J. et Scarselli, V. - Arch. Int. Pharmacodyn. 192, 37 (1971).

34. Pallarès, J. et Scarselli, V. à paraître.

35. Rossi, G. - C.R. Soc. Biol. 150, 2124 (1956).

36. Sawrey, W.L. - J. Comp. Physiol. Psychol. 419, 269 (1956).

37. Selye, H. - The physiology and pathology of exposure to stress (Acta inc. Montreal, Canada, 1950).

38. Shay, H. - Gastroenterology 5, 43 (1945).

39. Shay, H. - Gastroenterology 26, 906 (1954).

40. Varrò, V. - Gastroenterology 37, 463 (1959).

41. Warren, L. - L.J. Biol. Chem. 234, 1971 (1959).

42. Zavodskaya, I. - The Experimental Basis of Gastric Ulcere Pharmacotherapy pergammon Press (1968).

43. Zavodskaya, I. - Actualités Pharmacologiques 23, 163 (1970).

==========

Vu et permis d'imprimer

Dijon, le 21 Mars 1973.

Le PRESIDENT de l'UNIVERSITE :

Madame MORET-BAILLY.